(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関 国際事務局



I PARAN DININGKI NI KIRINI DARRI NIKI KIRI DINI KIRINI NIKA KIRINI DINI KIRINI DINI KIRINI BARI NIKI BARI

(43) 国際公開日 2001年7月5日 (05.07.2001)

PCT

(10) 国際公開番号 WO 01/48188 A1

C12N 15/09, 1/15, 1/19, 1/21, (51) 国際特許分類7: 5/10, C07K 14/705, 16/28, C12P 21/02, C12Q 1/02, 1/68, A61K 31/711, 48/00, A61P 43/00, G01N 33/15, 33/50

(21) 国際出願番号:

PCT/JP00/09408

(22) 国際出願日:

2000年12月28日(28.12.2000)

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特顯平11/375152

1999年12月28日 (28.12.1999) 特願2000/101339 2000年3月31日(31.03.2000)

- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社 ヘリックス研究所 (HELIX RESEARCH INSTITUTE) [JP/JP]; 〒292-0812 千葉県木更津市矢那1532番地3 Chiba (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 松本俊一郎 (MATSUMOTO, Shun-ichiro) [JP/JP]; 〒273-0005 千葉 県船橋市本町4-43-2-605 Chiba (JP). 小田 環 (ODA,

Tamaki) [JP/JP]; 〒292-0054 千葉県木更津市長須賀 392-203 Chiba (JP). 斎藤洋子 (SAITO, Youko) [JP/JP]; 〒292-0043 千葉県木更津市東太田4-5-13-103 Chiba (JP) 森川記行 (MORIKAWA, Noriyuki) [JP/JP]: 〒292-0833 千葉県木更津市貝渕3-9-17-408 Chiba (JP). 吉田 賢二 (YOSHIDA, Kenji) [JP/JP]; 〒292-0043 千葉県木 更津市東太田4-11-1-302 Chiba (JP). 諏訪牧子 (SUWA, Makiko) [JP/JP]; 〒144-0052 東京都大田区蒲田1-24-4 Tokyo (JP). 杉山友康 (SUGIYAMA, Tomoyasu) [JP/JP]; 〒292-0045 千葉県木更津市清見台2-6-23-102 Chiba (JP). 岸本利光 (KISHIMOTO, Toshimitsu) [JP/JP]. 神 崎康治 (KANZAKI, Kouji) [JP/JP]. 保田慎一郎 (YA-SUDA, Shin-ichiro) [JP/JP]. 井上佳久 (INOUE, Yoshihisa) [JP/JP]; 〒573-1153 大阪府枚方市招提大谷2-25-1 ウェルファイド株式会社 創薬研究所内 Osaka (JP).

- (74) 代理人: 清水初志,外(SHIMIZU, Hatsushi et al.); 〒 300-0847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 Ibaraki (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, IP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

/続葉有]

(54) Title: NOVEL GUANOSINE TRIPHOSPHATE-BINDING PROTEIN-COUPLED RECEPTORS, GENES THEREOF AND PRODUCTION AND USE OF THE SAME

(54) 発明の名称: 新規なグアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体およびそれらの遺伝子、並びにそれらの製 造および用途

(57) Abstract: Nine novel genes sustaining hydrophobic domains, which are seemingly 7 transmembrane domains characteristic to G protein-coupled receptors, are successfully isolated by human tissue cDNA screening. These genes and proteins which are the expression products thereof are usable in screening ligands, screening agonists or antagonists which are useful as drugs, diagnosing diseases in which these gene participate, etc.

(57) 要約:

A1

ヒト組織 cDNA のスクリーニングにより、G 蛋白質共役型受容体の特徴である 7個の膜貫通ドメインと考えられる疎水性領域を保持する9種類の新規遺伝子を 単離することに成功した。これら遺伝子やその翻訳産物である蛋白質は、リガン ドのスクリーニングや医薬品として有用なアゴニストやアンタゴニストのスクリ ーニング、さらにはこれら遺伝子が関連する疾患の診断などに利用し得る。

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 AZ, D.I., NO, NZ, MIZ, NO, IJ, 1001, コープンハッペは (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CL) (CT, CY) (2017) CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類: ___国際調査報告書

PCT/JP00/09408

明細書

新規なグアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体およびそれらの遺伝子、 並びにそれらの製造および用途

技術分野

本発明は、新規なG蛋白質共役型受容体およびそれらの遺伝子、並びにそれ らの製造および用途に関する。

背景技術

G蛋白質共役型受容体(G protein-coupled receptors)は、三量体型 GTP 結合 蛋白質の活性化を介して細胞内にシグナルを伝達する細胞膜受容体群の総称であ る。G蛋白質共役型受容体は、分子内に細胞膜貫通領域を7回有する構造上の特 性から、「7回膜貫通型受容体」とも呼ばれる。G 蛋白質共役型受容体は様々な 生理活性物質の情報を、三量体型 GTP 結合蛋白質の活性化、それにより引き起 こされる細胞内セカンドメッセンジャーの変動を介して細胞膜から細胞内へと伝 達する。三量体型 GTP 結合蛋白質により制御される細胞内セカンドメッセンジ ャーは、アデニレートシクラーゼを介する cAMP、フォスフォリパーゼ C を介す る Ca²⁺などがよく知られているが、三量体型 GTP 結合蛋白質を介したチャネルの 制御、リン酸化酵素の活性化など多くの細胞蛋白がその標的となっていることが 最近明らかとなってきた (Annu. Rev. Neurosci. (97) 20:399)。G 蛋白質共役型 受容体に対する基質(リガンド)は、大変多岐に渡っており、タンパク性ホルモ ン、ケモカイン、ペプチド、アミン、脂質由来物質、さらにはトロンビンの様な プロテアーゼもその一例となる。現在、遺伝子が同定された G 蛋白質共役型受 容体の数は感覚器受容体を除くと、ヒトで 300 個弱存在するが、リガンドが同 定された G 蛋白質共役型受容体の数は、そのうち約 140 種類に過ぎず、リガン

ド未知な「オーファン G 蛋白質共役型受容体」が 100 種類以上存在している。しかしながら実際のヒトゲノム中には、少なくとも 400 種類、場合によっては 1 000 種類もの G 蛋白質共役型受容体が存在する、とも想定されている (Trends P harmacol.Sci. (97) 18:430)。この事は、今後のゲノム解析の飛躍的進展に伴って、機能未知なオーファン G 蛋白質共役型受容体の数も爆発的に増加する事を意味している。

空間での相互作用を標的としており、その中でも G 蛋白質共役型受容体に関連する低分子薬は大部分を占めている。その根拠としては、G 蛋白質共役型受容体が関連する疾患が、遺伝的疾患を始めとして、脳神経系、循環器系、消化器系、免疫系、運動器系、泌尿器生殖器系など、非常に多くの領域に関連することにある。そのため、最近では多くの製薬企業がゲノム解析で明らかとなったオーファンG 蛋白質共役型受容体を所有し、リガンド探索と生理機能の解明に鎬を削っている。こうした状況を背景として、最近では新規 G 蛋白質共役型受容体の生理的リガンド探索の成功例も報告され始めている。例えば、calcitonin gene-related peptide 受容体 (J.Biol.Chem.(96) 271:11325)、orexin (Cell (98) 9 2:573)そして prolactin-releasing peptide (Nature (98) 393:272)などの事例は、生命科学分野での基礎研究としても大きな衝撃を持つ事例であった。

特に、オーファン G 蛋白質共役型受容体は新たな薬剤開発に繋がる可能性の高い標的として、多大な注目を集めている。一般的にオーファン G 蛋白質共役型受容体には特異的なリガンドが存在しないため、そのアゴニスト、アンタゴニストを開発することは困難であった。しかし、近年、充実された化合物ライブラストを開発することは困難であった。しかし、近年、充実された化合物ライブラリーとハイスループットスクリーニングと組み合わせることで、オーファン G 蛋白質共役型受容体を標的とした薬剤の創製が提唱されている(Trends Pharma col. Sci. (97) 18:430, Br.J. Pharm. (98) 125:1387)。すなわち、遺伝子操作によって同定されたオーファン G 蛋白質共役型受容体を、細胞内セカンドメッ

センジャーである cAMP, Ca²⁺の変化を指標とした機能スクリーニングにより生理 的アゴニストを発見し、生体内機能解析を行うというものである。この際、化合 物ライブラリーを利用して、スクリーニングをハイスループット化することによ り、オーファン G 蛋白質共役型受容体に対する特異的な代替 (surrogate) アゴ ニスト及びアンタゴニストの発見、ひいては特定の疾患治療薬の開発も理論的に は可能となる。

発明の開示

本発明は、このようなG蛋白質共役型受容体を取り巻く現状に鑑みてなされ たものであり、その目的は新規なG蛋白質共役型受容体およびその遺伝子、並 びにそれらの製造方法及び用途を提供することにある。さらにこれら分子を薬剤 開発研究の標的として提供することを目的とする。

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、ヒト組織c DNA を鋳型にしたポリメラーゼ連鎖反応を実施することにより、G 蛋白質共役型 受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと考えられる疎水性領域を保持する 9種類の新規遺伝子を単離することに成功した。これら遺伝子やその翻訳産物で ある蛋白質は、リガンドのスクリーニングや医薬品として有用なアゴニストやア ンタゴニストのスクリーニング、あるいはこれら遺伝子が関連する疾患の診断に 利用し得る。

即ち、本発明は、新規なG蛋白質共役型受容体およびそれらの遺伝子、並び にそれらの製造および用途に関し、より具体的には、

- (1) グアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体をコードする下記(a)から(d)のいずれかに記載の DNA、
- (a) 配列番号: 1から4、17から21のいずれかに記載のアミノ酸配列から なる蛋白質をコードする DNA、

- (b) 配列番号:5から8、22から26のいずれかに記載の塩基配列のコード 領域を含むDNA、
- (c) 配列番号: 1から4、17から21のいずれかに記載のアミノ酸配列において1もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失、付加および/または挿入したアミノ酸配列からなる蛋白質をコードする DNA、
- (d) 配列番号:5から8、22から26のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする DNA、
- (2) 配列番号: 1から4、17から21のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質の部分ペプチドをコードする DNA、
 - (3) (1) または (2) に記載の DNA を含有するベクター、
- (4) (1) または(2) に記載の DNA または(3) に記載のベクターを 保持する形質転換体、
- (5) (1) または (2) に記載の DNA によりコードされる蛋白質または ペプチド、
- (6) (4) に記載の形質転換体を培養し、該形質転換体またはその培養上 清から発現させた蛋白質またはペプチドを回収する工程を含む、(5) に記載の 蛋白質またはペプチドの製造方法、
- (7) (5) に記載の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法であって、
- (a) (5) に記載の蛋白質またはペプチドに被検試料を接触させる工程、
- (b) 該蛋白質またはペプチドに結合する化合物を選択する工程、を含む方法、
- (8) (5) に記載の蛋白質とそのリガンドとの結合を阻害する活性を有する化合物のスクリーニング方法であって、
- (a) 被検試料の存在下で(5) に記載の蛋白質またはその部分ペプチドにリガンドを接触させ、該蛋白質またはその部分ペプチドとリガンドとの結合活性を検出する工程、

- (b)被検試料非存在下での結合活性と比較して、工程(a)で検出された結合 活性を低下させる化合物を選択する工程、を含む方法、
- (9) (5) に記載の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物をスクリーニングする方法であって、
- (a)被検試料の存在下で該蛋白質を発現する細胞に該蛋白質のリガンドを接触させる工程、
- (b) 該リガンドの該蛋白質への結合による細胞における変化を検出する工程、
- (c)被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程(b)で検出された細胞における変化を抑制または増強させる化合物を選択する工程、を含む方法、
- (10) 細胞における変化が、cAMP 濃度の変化またはカルシウム濃度の変化である、(8) または(9) に記載の方法、
 - (11) (5)に記載の蛋白質に結合する抗体、
- (12) (7)から(10)のいずれかに記載のスクリーニングにより単離 される化合物、および
 - (13) (12) に記載の化合物を有効成分とする医薬組成物、および
- (14) 癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の治療のための、(13)に記載の医薬組成物、
- (15) 配列番号: 5から8、22から26のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA またはその相補鎖に相補的な、少なくとも 15 ヌクレオチドの鎖長を有するヌクレオチド、
- (16) 癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断方法であって、被検者由来の該疾患に関連した組織における(1)に記載の DNA の変異を検出することを含む方法、

(17) (11) に記載の抗体または(15) に記載のヌクレオチドを含む、癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断薬、を提供するものである。

なお、本発明において「G 蛋白質共役型受容体」とは、GTP 結合蛋白質の活性 化を介して細胞内にシグナルを伝達する細胞膜受容体を指す。

本発明において「リガンド」とは、G蛋白質共役型受容体に結合し、細胞内にシグナルを伝達する生理的物質を指す。ここで「生理的物質」とは、生体内でG蛋白質共役型受容体に結合している化合物を指す。

本発明において「アゴニスト」とは、G蛋白質共役型受容体に結合し、細胞内にシグナルを伝達しうる化合物を指し、生理的物質、人工的に合成した化合物、 天然由来の化合物を含む。

本発明において「アンタゴニスト」とは、リガンドが G 蛋白質共役型受容体 に結合すること、もしくは細胞内にシグナルを伝達することを阻害する化合物を 指し、生理的物質、人工的に合成した化合物、天然由来の化合物を含む。

本発明は、新規な G 蛋白質共役型受容体および該蛋白質をコードする DNA を提供する。本発明に含まれる、本発明者等により単離された 9 のヒト由来の cDN A クローンを、「GPRv8」、「GPRv12」、「GPRv16」、「GPRv21」、「GPRv40」、「GPRv47」、「GPRv51」、「GPRv71」、「GPRv72」と命名した(必要に応じてこれらクローンをまとめて「GPRv」と称する)。これら cDNA の塩基配列を配列番号:5から8、22から26に、該 cDNA によりコードされる蛋白質のアミノ酸配列を配列番号:1から4、17から21に示す。

BLAST 検索の結果、GPRv cDNA がコードする蛋白質は、いずれも既知の G 蛋白質共役型受容体と有意なアミノ酸配列上の相同性を示した。具体的には、「GPR v8」は HUMAN VASOPRESSIN V1B RECEPTOR (P47901, 424aa)に対して 36%の相同性を、「GPRv12」は RAT 5-HYDROXYTRYPTAMINE 6 RECEPTOR (P31388, 436aa)に対して 27%の相同性を、「GPRv16」は MOUSE GALANIN RECEPTOR TYPE 1 (P56479)

、348aa)に対して 28%の相同性を、「GPRv21」は BOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPT OR TYPE 2 (P79113, 384aa)に対して 30%の相同性を、「GPRv40」は OXYTOCIN R ECEPTOR (P97926, 388aa)に対して 34%の相同性を、「GPRv47」は GPRX_ORYLA P ROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR (Q91178, 428aa)に対して 43%の相同性を、「GPRv51」は PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR RTA (P23749, 343aa)に対して 37%の相同性を、「GPRv71」は Chicken P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (Q98907, 328aa)に対して 45%の相同性を、「GPRv72」は ALPHA-1A ADRENERGIC RECEPTOR (002824, 466aa)に対して 30%の相同性をそれぞれ示した。

また、本発明者等が単離した GPRv cDNA がコードする蛋白質(以下、「GPRv 蛋白質」と称することがある)は、いずれも G 蛋白質共役型受容体の特徴である 7 個の膜質通ドメインと考えられる疎水性領域を保持していた。これら事実から、GPRv cDNA は、いずれも G 蛋白質共役型受容体ファミリーに属する蛋白質をコードしていると考えられる。 G 蛋白質共役型受容体は、そのリガンドの作用により G 蛋白質の活性化を通じて細胞内へシグナル伝達を行なう活性を有しており、上記したように遺伝的疾患を始めとして、脳神経系、循環器系、消化器系、免疫系、運動器系、泌尿器生殖器系などの非常に多くの領域の疾患に関連している。従って、GPRv 蛋白質は、GPRv 蛋白質の機能を調節するアゴニストやアンタゴニストなどのスクリーニングに利用することができ、上記疾患に対する医薬品の開発の重要な標的となる。

本発明は、また、GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質を提供する。ここで「機能的に同等」とは、対象となる蛋白質が GPRv 蛋白質と同等の生物学的特性を有していることを意味する。GPRv 蛋白質が持つ生物学的特性としては、三量体型 GTP 結合蛋白質の活性化を介して細胞内へシグナル伝達を行なう活性が挙げられる。三量体型 GTP 結合蛋白質は、活性化する細胞内伝達系の種類によって、Ca²¹を上昇させる Gq型、cAMP を上昇させる Gs型、そして cAMP を抑制する Gi型の3種類のカテゴリーに分類される(Trends Pharmacol.Sci. (99) 20:118)。

従って、対象となる蛋白質が GPRv 蛋白質と同等の生物学的特性を有しているか否かは、例えば、その活性化による細胞内の cAMP 濃度もしくはカルシウム濃度の変化を検出することにより評価することが可能である。

GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質を調製するための方法の1つの態様としては、蛋白質中のアミノ酸配列に変異を導入する方法が挙げられる。このような方法には、例えば、部位特異的変異誘発法(Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 8.1-8.5)) が含まれる。また、蛋白質中のアミノ酸の変異は、自然界において生じることもある。本発明には、このように人工的か自然に生じたものかを問わず、GPRv蛋白質のアミノ酸配列(配列番号:1から4、17から21)において1もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入および/もしくは付加などにより変異した蛋白質であって、GPRv蛋白質と機能的に同等な蛋白質が含まれる。と発した蛋白質におけるアミノ酸の変異数や変異部位は、GPRv蛋白質の機能が保持される限り制限はない。変異数は、典型的には、全アミノ酸の10%以内であり、好ましくは全アミノ酸の5%以内であり、さらに好ましくは全アミノ酸の1%以内であると考えられる。

GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質を調製するための方法の他の態様としては、ハイブリダイゼーション技術あるいは遺伝子増幅技術を利用する方法が挙げられる。即ち、当業者であれば、ハイブリダイゼーション技術(Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 6.3-6.4)を利用して GPRv 蛋白質をコードする DNA 配列 (配列番号:5から8、22から26) またはその一部をもとに同種または異種生物由来の DNA 試料から、これと相同性の高い DNA を単離して、該 DNA から GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質を得ることは、通常行いうることである。このように GPRv 蛋白質をコードする DNA とハイブリダイズする DNA によりコードされる

蛋白質であって、GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質もまた本発明の蛋白質に 含まれる。

このような蛋白質を単離するための生物としては、ヒト以外に、例えば、ラット、マウス、ウサギ、ニワトリ、ブタ、ウシ等が挙げられるが、これらに制限されない。

GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質をコードする DNA を単離するためのストリンジェントなハイブリダイゼーション条件としては、通常「1xSSC、0.1% SDS、37℃」程度の条件であり、より厳しい条件としては「0.5xSSC、0.1% SDS、42 ℃」程度の条件であり、さらに厳しい条件としては「0.2xSSC、0.1% SDS、65℃」程度の条件である。このようにハイブリダイゼーションの条件が厳しくなるほどブローブ配列と高い相同性を有する DNA の単離を期待しうる。但し、上記 SSC、SDS および温度の条件の組み合わせは例示であり、当業者であれば、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを決定する上記若しくは他の要素(例えば、プローブ濃度、プローブの長さ、ハイブリダイゼーション反応時間など)を適宜組み合わせることにより、上記と同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。

このようなハイブリダイゼーション技術を利用して単離される DNA がコード する蛋白質は、通常、GPRv 蛋白質とアミノ酸配列において高い相同性を有する。高い相同性とは、少なくとも 40%以上、好ましくは 60%以上、さらに好ましくは 80%以上(例えば、90%以上や 95%以上)の配列の相同性を指す。

アミノ酸配列や塩基配列の同一性は、Karlin and Altschul によるアルゴリズム BLAST(Proc. Natl. Acad. Sei. USA 90:5873-5877, 1993)によって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTN や BLASTX と呼ばれるプログラムが開発されている(Altschul et al. J. Mol. Biol.215:403-410, 1990)。BLAST に基づいて BLASTN によって塩基配列を解析する場合には、パラメーターはたとえば score = 100、wordlength = 12 とする。また、BLAST に基づいて

BLASTX によってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターはたとえば sc ore = 50、wordlength = 3 とする。BLAST と Gapped BLAST プログラムを用いる 場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法 の具体的な手法は公知である(http://www.ncbi.nlm.nih.gov.)。

また、遺伝子増幅技術 (PCR) (Current protocols in Molecular Biology e dit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Section 6.1-6.4) を用いて GPRv 蛋白質をコードする DNA 配列 (配列番号:5から8、22から26)の一部を基にプライマーを設計し、GPRv 蛋白質をコードする DNA 配列と相同性の高い DNA 断片を単離し、該 DNA を基に GPRv 蛋白質と機能的に同等な蛋白質を得ることも可能である。

本発明は、また、本発明の蛋白質の部分ペプチドを含む。この部分ペプチドには、リガンドに結合するがシグナル伝達を行なわないペプチドが含まれる。このようなペプチドを基に作製したアフィニティーカラムは、リガンドのスクリーニングに好適に用いることができる。また、本発明の蛋白質の部分ペプチドは、抗体作製に用いることも可能である。本発明の部分ペプチドは、例えば、遺伝子工学的手法、公知のペプチド合成法、あるいは本発明の蛋白質を適当なペプチダーゼで切断することによって製造することができる。本発明の部分ペプチドは、通常、8アミノ酸残基以上、好ましくは12アミノ酸残基以上(例えば、15アミノ酸残基以上)である。

本発明の蛋白質は、組換え蛋白質として、また天然の蛋白質として調製することが可能である。組換え蛋白質は、例えば、後述するように本発明の蛋白質をコードする DNA を挿入したベクターを適当な宿主細胞に導入し、形質転換体内で発現した蛋白質を精製することにより調製することが可能である。一方、天然の蛋白質は、例えば、後述する本発明の蛋白質に対する抗体を結合したアフィニティーカラムを利用して調製することができる(Current Protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons Sectio

n 16.1-16.19)。アフィニティー精製に用いる抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。また、インビトロトランスレーション (例えば、「On the fidelity of mRNA translation in the nuclease-treat ed rabbit reticulocyte lysate system. Dasso, M.C., Jackson, R.J. (1989) NA R 17:3129-3144」参照)などにより本発明の蛋白質を調製することも可能である。

また、本発明は、上記本発明の蛋白質をコードする DNA を提供する。本発明の DNA としては、本発明の蛋白質をコードしうるものであれば、その形態に特に制限はなく、cDNA の他、ゲノム DNA、化学合成 DNA なども含まれる。また、本発明の蛋白質をコードしうる限り、遺伝暗号の縮重に基づく任意の塩基配列を有する DNA が含まれる。本発明の DNA は、上記のように、GPRv 蛋白質をコードする DNA 配列(配列番号:5から8、22から26)あるいはその一部をプローブとしたハイブリダイゼーション法やこれら DNA 配列をもとに合成したプライマーを用いた PCR 法等の常法により単離することが可能である。

また、本発明は、本発明の DNA が挿入されたベクターを提供する。本発明のベクターとしては、挿入した DNA を安定に保持するものであれば特に制限されず、例えば宿主に大腸菌を用いるのであれば、クローニング用ベクターとしてはpBluescript ベクター(Stratagene 社製) などが好ましい。本発明の蛋白質を生産する目的においてベクターを用いる場合には、特に発現ベクターが有用である。発現ベクターとしては、試験管内、大腸菌内、培養細胞内、生物個体内で蛋白質を発現するベクターであれば特に制限されないが、例えば、試験管内発現であればpBEST ベクター(プロメガ社製)、大腸菌であればpET ベクター(Invitrogen 社製)、培養細胞であれば pME18S-FL3 ベクター(GenBank Accession No. AB009864)、生物個体であれば pME18S ベクター(Mol Cell Biol. 8:466-472(1988))などが好ましい。ベクターへの本発明の DNA の挿入は、常法により、例えば、制限酵素サイトを用いたリガーゼ反応により行うことができる(Current

protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. J ohn Wiley & Sons. Section 11.4-11.11) o

また、本発明は、本発明のDNAまたは本発明のベクターを保持する形質転換体を提供する。本発明のベクターが導入される宿主細胞としては特に制限はなく、目的に応じて種々の宿主細胞が用いられる。蛋白質を高発現させるための真核細胞としては、例えば、COS細胞、CHO細胞などを例示することができる。宿主細胞へのベクター導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法(Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 9.1-9.9)、リポフェクタミン法(GIBCO-BRL 社製)、マイクロインジェクション法などの公知の方法で行うことが可能である。

また、本発明は、本発明の蛋白質をコードする DNA(配列番号:5から8、22から26のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA またはその相補鎖)に相補的な、少なくとも15 ヌクレオチドの鎖長を有するヌクレオチドを提供する。ここで「相補鎖」とは、A:T(ただし RNA の場合は U)、G:C の塩基対からなる2本鎖核酸の一方の鎖に対する他方の鎖を指す。また、「相補的」とは、少なくとも15個の連続したヌクレオチド領域で完全に相補配列である場合に限られず、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは90%、さらに好ましくは95%以上の塩基配列上の相同性を有すればよい。相同性を決定するためのアルゴリズムは本明細書に記載したものを使用すればよい。このようなヌクレオチドは、本発明のDNAを検出、単離するためのプローブとして、また、本発明のDNAを増幅するためのブライマーとして利用することが可能である。ブライマーとして用いる場合には、通常、15bp~100bp、好ましくは15bp~35bpの鎖長を有する。また、プローブとして用いる場合には、本発明のDNAの少なくとも一部若しくは全部の配列を含む少なくとも15bpの鎖長のヌクレオチドが用いられる。このようなヌクレオチドは、好ましくは本発明の蛋白質をコードする

DNAに特異的にハイブリダイズするものである。「特異的にハイブリダイズする」とは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくはストリンジェントな条件下で、本発明の蛋白質をコードする DNA(配列番号:5から8、22から26)とハイブリダイズし、他の蛋白質をコードする DNA とはハイブリダイズしないことを意味する。

これらヌクレオチドは、本発明の蛋白質の異常を検査・診断するために利用できる。例えば、これらヌクレオチドをプローブやプライマーとして用いたノーザンハイブリダイゼーションや RT-PCR により、本発明の蛋白質をコードする DNA の発現異常を検査することができる。これらヌクレオチドは、例えば、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の検査への利用が考えられる。また、これらヌクレオチドをプライマーとして用いたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により本発明の蛋白質をコードする DNA やその発現制御領域を増幅し、RFLP 解析、SSCP、シークエンシング等の方法により、DNA 配列の異常を検査・診断することができる。

また、これらヌクレオチドには、本発明の蛋白質の発現を抑制するためのアンチセンス DNA が含まれる。アンチセンス DNA は、アンチセンス効果を引き起こすために、少なくとも 15bp 以上、好ましくは 100bp、さらに好ましくは 500bp以上の鎖長を有し、通常、3000bp以内、好ましくは 2000bp以内の鎖長を有する。このようなアンチセンス DNA には、本発明の蛋白質の異常(機能異常や発現異常)などに起因した疾患の遺伝子治療への応用も考えられる。該アンチセンス DNA は、例えば、本発明の蛋白質をコードする DNA(例えば、配列番号:5から8、22から26)の配列情報を基にホスホロチオネート法(Stein,1988 Phy sicochemical properties of phosphorothioate oligodeoxynucleotides. *Nucleic Acids Res* 16,3209-21 (1988))などにより調製することが可能である。

本発明のヌクレオチドは、遺伝子治療に用いる場合には、例えば、レトロウイ ルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターなどのウ イルスベクターやリポソームなどの非ウイルスベクターなどを利用して、ex vi vo 法や in vivo 法などにより患者へ投与を行うことが考えられる。

また、本発明は、本発明の蛋白質に結合する抗体を提供する。本発明の抗体の 形態には特に制限はなく、ポリクローナル抗体やモノクローナル抗体または抗原 結合性を有するそれらの一部も含まれる。また、全てのクラスの抗体が含まれる 。さらに、本発明の抗体には、ヒト化抗体などの特殊抗体も含まれる。

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体の場合には、常法に従い本発明の蛋白質のアミノ酸配列に相当するオリゴベブチドを合成し、家兎に免疫することにより得ることが可能である(Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.12-11.13)。モノクローナル抗体の場合には、常法に従い大腸菌で発現し精製した蛋白質を用いてマウスを免疫し、その脾臓細胞と骨髄腫細胞を細胞融合させたハイブリドーマ細胞を調製し、該ハイブリドーマ細胞から得ることができる(Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4-11.11)。

本発明の蛋白質に結合する抗体は、本発明の蛋白質の精製に加え、例えば、本発明の蛋白質の発現異常や構造異常の検査・診断に利用することも考えられる。 具体的には、例えば組織、血液、または細胞などから蛋白質を抽出し、ウェスタンプロッティング、免疫沈降、ELISA等の方法による本発明の蛋白質の検出を通して、発現や構造の異常の有無を検査・診断することができる。本発明の抗体は、例えば、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の検査への利用が考えられる。

また、本発明の蛋白質に結合する抗体を、本発明の蛋白質に関連した疾患の治療などの目的に利用することも考えられる。本発明の抗体は、本発明の蛋白質のアゴニストやアンタゴニストとして作用し得る。抗体を患者の治療目的で用いる場合には、ヒト抗体またはヒト化抗体が免疫原性の少ない点で好ましい。ヒト抗体は、免疫系をヒトのものと入れ換えたマウス(例えば、「Functional transp

lant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibod y response in mice, Mendez, M.J. et al.(1997) Nat. Genet. 15:146-156」参照)に免疫することにより調製することができる。また、ヒト化抗体は、モノクローナル抗体の超可変領域を用いた遺伝子組換えによって調製することができる(Methods in Enzymology 203, 99-121(1991))。

また、本発明は、本発明の蛋白質を利用した、本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法を提供する。このスクリーニング方法は、(a)本発明の蛋白質またはその部分ペプチドに被検試料を接触させる工程、(b)該蛋白質またはその部分ペプチドに結合する化合物を選択する工程を含む。

被検試料としては、特に制限はなく、例えば、種々のG蛋白質共役型受容体のリガンド活性については不明の公知化合物やペプチド(例えば、ケミカルファイルに登録されているもの)あるいはファージ・ディスプレイ法(J.Mol.Biol. (1991)222,301-310)などを応用して作成されたランダム・ペプチド群を用いることができる。また、微生物の培養上清や、植物、海洋生物由来の天然成分などもスクリーニングの対象となる。その他、脳をはじめとする生体組織抽出物、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物などが挙げられるが、これらに制限されない。

スクリーニングに用いる本発明の蛋白質は、例えば、細胞表面に発現した形態、該細胞の細胞膜画分としての形態、アフィニティーカラムに結合した形態であってもよい。

具体的なスクリーニングの手法としては、例えば、本発明の蛋白質のアフィニティーカラムに被検試料を接触させ本発明の蛋白質に結合する化合物を精製する方法、ウエストウエスタンブロッティング法など多くの公知の方法を利用することができる。これら方法を利用する場合には、被検試料は適宜標識し、この標識を利用して本発明の蛋白質との結合を検出することができる。また、これら方法の他に、本発明の蛋白質を発現する細胞膜を調製して、これをチップ上に固定し

、リガンド結合時に三量体型 GTP 結合蛋白質が解離する事を、表面プラズモン 共鳴 (surface plasmon resonance) の変化で検出する方法 (Nature Biotechno logy (99) 17:1105) を用いることも可能である。

また、被検試料と本発明の蛋白質との結合活性は、被検試料が細胞表面に発現させた本発明の蛋白質へ結合することにより生じる細胞における変化を指標に検出することもできる。このような変化としては、例えば、細胞内の Ca^{2+} レベルの変化や cAMP レベルの変化が挙げられるが、これらに制限されない。具体的には、G蛋白質共役型受容体に対するアゴニスト活性は $GTP\gamma$ S 結合法により測定できる。

この方法の1つの実施例として、G蛋白質共役型受容体を発現させた細胞膜を $20\,\mathrm{mM}$ HEPES (pH7.4), $100\,\mathrm{mM}$ NaCl, $10\,\mathrm{mM}$ MgCl $_2$, $50\,\mu\mathrm{M}$ GDP 溶液中で、 36 S で標識された GTP γ S $400\,\mathrm{pM}$ と混合させ、被検試料存在下と非存在下でインキュベーション後、濾過(filtration)を行い、結合した GTP γ S O放射活性を比較する手法を用いることができる。

また G 蛋白質共役型受容体は、三量体型 GTP 結合蛋白質の活性化を介して細胞内にシグナルを伝達するシステムを共有している。三量体型 GTP 結合蛋白質は、活性化する細胞内伝達系の種類によって、 Ca^{2+} を上昇させる Gq型、CAMP を上昇させる Gs型、そして CAMP を抑制する Gi 型の Gi 3 種類に分類される。このことを応用して Gi 蛋白 Gi 3 を抑制する Gi 2 の Gi 2 を応用して Gi 3 を力ブユニットと他の Gi 3 を用いてリガンドスクし、あるいは Gi 3 のる Gi 4 を用いてリガンドスクリーニングの際の陽性シグナルを Gi 6 の細胞内伝達経路である、Gi 6 を用いてリガンドスクリーニングの際の陽性シグナルを Gi 6 の細胞内伝達経路である、Gi 6 を引きることが可能である。上昇した Gi 7 に打っている。 Gi 7 に対し、 Gi 8 に対し、 Gi 8 に対し、 Gi 9 に対し、 Gi 9 に関して対し、 Gi 9 に対し、 G

上昇に帰結させ、CRE(cAMP-responsive element)を上流に有するレポーター遺伝子系での変化を指標とすることも可能である(*Trends Pharmacol.Sci.* (99) 20:118)。

このスクリーニング系において本発明の蛋白質を発現させる宿主細胞としては 特に制限はなく、目的に応じて種々の宿主細胞が用いられるが、例えば、COS 細 胞、CHO 細胞、HEK293 細胞などを例示することができる。本発明の蛋白質を脊 椎動物細胞で発現させるためのベクターとしては、本発明の蛋白質をコードする 遺伝子の上流に位置するプロモーター、RNA のスプライス部位、ポリアデニル化 部位および転写終結配列や複製起点等を有するものを好適に用いることができる 。例えば、SV40 の初期プロモーターを有する pSV2dhfr (Mol.Cell.Biol.(1981) 1,854-864) ♣, pEF-BOS (Nucleic Acids Res.(1990)18,5322) , pCDM8 (Natur e(1987)329,840-842)、pCEP4 (Invitrogen 社)などは、G蛋白質共役型受容体 を発現させるのに有用なベクターである。ベクターへの本発明の DNA の挿入は 常法により制限酵素サイトを用いたリガーゼ反応により行うことができる(Cur rent protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publis h. John Wiley & Sons. Section 11.4~11.11) 。また、宿主細胞へのベクター 導入は、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法 (Current proto cols in Molecular Biology edit. Ausubel et al. (1987) Publish. John Wi ley & Sons. Section 9.1-9.9) 、リポフェクタミン法 (G1BCO-BRL 社製) 、Fu GENE6 試薬 (ペーリンガーマンハイム社)、マイクロインジェクション法などの 公知の方法で行うことが可能である。

上記の本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法により、リガンドが単離されれば、本発明の蛋白質とリガンドの相互作用を阻害する化合物のスクリーニングが可能となる。従って、本発明は、また、本発明の蛋白質とそのリガンドとの結合を阻害する活性を有する化合物のスクリーニング方法を提供する。このスクリーニング方法は、(a)被検試料の存在下で本発明の蛋白質また

はその部分ペプチドにリガンドを接触させ、該蛋白質またはその部分ペプチドと リガンドとの結合活性を検出する工程、(b)被検試料非存在下での結合活性と 比較して、工程(a)で検出された結合活性を低下させる化合物を選択する工程 、を含む。

被検試料としては、特に制限はなく、例えば、コンビナトリアル・ケミストリー技術(Tetrahedron (1995) 51,8135-8137)によって得られた化合物群、あるいはファージ・ディスプレイ法(J.Mol.Biol. (1991) 222,301-310)などを応用して作成されたランダム・ペプチド群を用いることができる。また、微生物の培養上清や、植物、海洋生物由来の天然成分などもスクリーニングの対象となる。その他、脳をはじめとする生体組織抽出物、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物、合成低分子化合物、合成ペプチド、天然化合物などが挙げられるが、これらに制限されない。

スクリーニングに用いる本発明の蛋白質は、例えば、細胞表面に発現した形態、該細胞の細胞膜画分としての形態、あるいはアフィニティーカラムに結合した 形態であってもよい。

具体的なスクリーニングの手法としては、例えば、リガンドを放射性同位元素などで標識して、被検試料の存在下において本発明の蛋白質と接触させ、被検試料非存在下で検出した場合と比較して、本発明の蛋白質とリガンドとの結合活性を低下させる化合物を、該リガンドに付された標識を基に検出する方法を用いることができる。また、上記の本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニングの場合と同様に、細胞内の変化を指標にスクリーニングすることも可能である。即ち、本発明の蛋白質を発現する細胞に被検試料の存在下でリガンドを接触させ、被検試料非存在下で検出した場合と比較して、該細胞における変化を減少させる化合物を選択することにより、本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害する化合物を選択することにより、本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害する化合物をスクリーニングすることが可能である。本発明の蛋白質を発現する細胞は、上記した本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニングの場合と同

様に調製することができる。このスクリーニングにより単離される化合物は、本 発明の蛋白質のアゴニストやアンタゴニストの候補となる。

また、本発明は、本発明の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物をスクリーニングする方法を提供する。このスクリーニング方法は、(a)被検試料の存ったで本発明の蛋白質を発現する細胞に該蛋白質のリガンドを接触させる工程、在下で本発明の蛋白質への結合による細胞における変化を検出する(b)該リガンドの本発明の蛋白質への結合による細胞における変化を検出する工程、(c)被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程(b)で工程、(c)被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程(b)で工程、(c)被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程(b)で

被検試料としては、上記の本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害する化合物のスリーニング方法と同様に、コンビナトリアル・ケミストリー技術によって得られた化合物群、ファージ・ディスプレイ法などを応用して作成されたランダム・ペプチド群、微生物の培養上清や、植物、海洋生物由来の天然成分、生体組織抽出物、細胞抽出液、遺伝子ライブラリーの発現産物、合成低分子化合物、合成ペプチド、天然化合物などを用いることができる。また、上記の本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害する化合物のスリーニングにより単離された化合物を被検試料として用いることも可能である。本発明の蛋白質を発現する細胞は、と被検試料として用いることも可能である。本発明の蛋白質を発現する細胞は、と記した本発明の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニングの場合と同様に調製することができる。被検試料接触後の細胞における変化は、上記のスクリーニング方法と同様に、細胞内の Ca²+レベルや cAMP レベルの変化を指標に検出することができる。また、細胞内のシグナル伝達を検出する場合には、ルシフェラーゼなどをレポーター遺伝子とするレポーターアッセイ系等の測定系を利用して検出することも可能である。

この検出の結果、被検試料非存在下においてリガンドを接触させた場合の細胞における変化と比較して、被検試料を接触させた場合における細胞における変化が抑制されていれば、用いた被検試料は、本発明の蛋白質の活性を阻害する化合

物であると判定される。逆に、被検試料が該細胞における変化を増強させれば、該化合物は、本発明の蛋白質の活性を促進する化合物であると判定される。なお、ここでいう「本発明の蛋白質の活性の促進または阻害する」とは、本発明の蛋白質に対する直接的な作用であると、間接的な作用であるとを問わず、結果として本発明の蛋白質の活性が促進または阻害されることを指す。従って、このスクリーニングにより単離される化合物には、本発明の蛋白質またはリガンドに作用してこれらの結合を阻害または促進することにより本発明の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物の他、これらの結合自体を阻害または促進しないが、結果として本発明の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物も含まれる。このような化合物には、例えば、本発明の蛋白質とリガンドとの結合を阻害しないが、細胞内のシグナル伝達経路を阻害若しくは促進する化合物が含まれる。

本発明のスクリーニング方法により単離される化合物を医薬品として用いる場合には、単離された化合物自体を直接患者に投与する以外に、公知の製剤学的方法により製剤化した医薬組成物として投与を行うことも可能である。例えば、薬理学上許容しうる担体(賦形剤、結合剤、崩壊剤、矯味剤、矯臭剤、乳化剤、希釈剤、溶解補助剤等)と混合して得られる医薬組成物または錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、トローチ剤、シロップ剤、液剤、乳剤、懸濁剤、注射剤(液剤、懸濁剤等)、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、点眼剤、眼軟膏等の製剤として液剤、懸濁剤等)、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、点眼剤、眼軟膏等の製剤として経口または非経口に適した形態で処方される。患者への投与は、一般的には、例えば、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射など当業者に公知の方法により行いうる。投与量は、患者の体重や年齢、投与方法などにより変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。また、該化合物がDNAによりコードされうるものであれば、該DNAを遺伝子治療用ベクターに組込み、遺伝子治療を行うことも考えられる。本発明のスクリーニング方法により単離される化合物は、例えば、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の治療への応用が期待される。

本発明は、また、本発明の GPRv 蛋白質をコードする遺伝子の発現を検出することを特徴とする、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の診断方法を提供する

本実施例において、本発明の GPRv 蛋白質をコードする遺伝子が、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病に関連した患部組織において、正常組織と比較して有意に発現レベルが相違することが見出された。従って、被検者のこれら組織における、本発明の GPRv 蛋白質をコードする遺伝子の発現を検出することにより、ける、本発明の診断を行うことが可能である。ここで「遺伝子の発現」には、転写および翻訳の双方が含まれる。

本発明の診断方法は、例えば、以下の如く実施することができる。

生検により採取した組織に一部や血液サンプルなどから、常法により RNA を抽出し、実施例で示した定量的 PCR、ノーザンハイブリダイゼイション、あるいはドットブロットハイブリダイゼイションなどにより GPRv mRNA の定量を行い、診断することが可能である。また、上記組識から蛋白質を抽出し、ウェスタンプロッティング、免疫沈降、ELISA 等の方法を用いた GPRv 蛋白質の定量、あるいは、非侵襲な方法として、GPRv 蛋白質に結合する化合物や抗体を標識したものを被検患者に投与し、PET (ポジトロンエミッショントモグラフィー) などでの検出により診断することも可能である。

この診断の結果、被検者由来の組織における遺伝子の発現が、上記疾患に罹患した患者由来の組織における遺伝子の発現と、同一の傾向(例えば、正常組織と比較した遺伝子の発現レベルの上昇または低下)を示せば、該被検者は、疾患に罹患している、または罹患のおそれがあると判定される。

例えば、GPRv8 は結腸で発現が認められるが、結腸癌でこの発現は顕著に上昇する。従って、被検者の結腸組織において、高レベルの GPRv8 の発現が認められた場合、この被検者は、結腸癌の疑いがある。また、正常の膵臓および子宮でれた場合、この被検者は、結腸癌の疑いがある。また、正常の膵臓および子宮で発現が検出できなかったが、癌化で中程度発現した。従って、被検者の膵臓また

は子宮において、GPRv8 の発現が認められた場合、この被検者は膵臓癌または子宮癌の疑いがある。

GPRv12 は正常卵巣および精巣では発現が検出できなかったが、癌化で発現が検出できた。また、アルツハイマー病では海馬での発現が減少した。従って、被検者の卵巣または精巣において、GPRv12 の発現が認められた場合、この被検者は、卵巣癌または精巣癌の疑いがある。同様に、被検者の海馬において、正常値より低レベルの GPRv12 の発現が認められた場合、この被検者は、アルツハイマー病の疑いがある。

GPRv16 は、結腸で発現しているが、癌化で発現が検出できなくなった。脳では癌化で発現が増加した。肝臓では肝硬変により発現が検出できなくなった。アルツハイマー病の脳では海馬で発現が増強した。従って、被検者の結腸において正常値より低レベルの GPRv16 の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌の疑いがある。また、脳において、正常値より高レベルの GPRv16 の発現が認められた場合、この被検者は脳の癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルの GPRv16 の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。また、海馬において正常値より高レベルの GPRv16 の発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

GPRv21 は、癌化により結腸及び精巣での発現が検出できなくなった。従って、被検者の結腸または精巣において正常値より低レベルの GPRv21 の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌または精巣癌の疑いがある。

GPRv40 は、癌化により脳、精巣での発現が増加し、肝硬変により発現が減少した。従って、脳や精巣において正常値より高レベルの GPRv40 の発現が認められた場合、この被検者は脳の癌や精巣癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルの GPRv40 の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。

GPRv47は、癌化により脳、腎臓での発現が増加し、精巣での発現が減少した。肝臓での発現が肝硬変で検出できなくなった。従って、脳や腎臓において正常値より高レベルの GPRv47 の発現が認められた場合、この被検者は脳の癌または腎臓癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルの GPRv47 の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。

GPRv51は、結腸や精巣において癌化により発現が減少した。肝硬変の肝臓でも正常と比較して発現が減少した。アルツハイマー病において海馬で発現が増大した。従って、結腸や精巣において正常値より低レベルの GPRv51 の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌または精巣癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルの GPRv51 の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。また、海馬において正常値より高レベルの GPRv51 の発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

GPRv71 は、癌化により結腸および腎臓での発現が減少し、肝硬変の肝臓では発現が検出できなくなった。アルツハイマー病では前頭葉での発現が減少した。従って、結腸または腎臓において正常値より低レベルの GPRv71 の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌または腎臓癌の疑いがある。また、肝臓において正常値より低レベルの GPRv71 の発現が認められた場合、この被検者は肝硬変の疑いがある。また、前頭葉において正常値より低レベルの GPRv の発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

GPRv72 は、結腸では強く発現しているが癌化で発現が検出できなくなった。アルツハイマー病の海馬で発現が増大した。従って、結腸において正常値より低レベルの GPRv72 の発現が認められた場合、この被検者は結腸癌の疑いがある。また、海馬において正常値より高レベルの GPRv72 の発現が認められた場合、この被検者はアルツハイマー病の疑いがある。

また、本発明の GPRv 蛋白質をコードする遺伝子の変異により、上記疾患が発症することも考えられる。従って、本発明の GPRv 蛋白質をコードする遺伝子の

変異を検出することにより、上記疾患の診断を行なうことも可能であると考えられる。

このような遺伝子診断は、例えば、以下の如く実施することができる。

診断用の核酸はゲノム DNA または cDNA を直接にあるいは PCR もしくはその他の増幅法を用いて増幅してもよい。正常遺伝子との比較において、増幅生成物のサイズ変化により欠失および挿入を検出することができる。増幅 DNA と GPRv をコードする DNA をハイブリダイズさせ融解温度の差などにより点突然変異を同定することができる。 DNA 配列の相違は、変性物質含有または不含のゲル中の DNA フラグメントの電気泳動の移動度の変化を検出することや、直接的な DNA 塩基配列決定により検出できる。

この診断の結果、被検者における GPRv 蛋白質をコードする遺伝子が正常型と 比較して変異していた場合、該被検者は上記疾患の疑いがあると判定される。

即ち、本明細書記載の方法により GPRv 蛋白質をコードする遺伝子の変異、mR NA や蛋白質の発現の増加や減少を検出することにより、癌、肝硬変、またはアルツハイマー病の診断方法またはかかる疾患に対する感受性の診断方法が提供される。

図面の簡単な説明

図1は、「GPRv8」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。HUMAN VASOPRESSIN V1B RECEPTO R に対し 36%の相同性を示した。

図 2 は、「GPRv12」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。RAT 5-HYDROXYTRYPTAMINE 6 REC EPTOR に対し 27%の相同性を示した。

図3は、「GPRv16」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。MOUSE GALANIN RECEPTOR TYPE 1 に対し 28%の相同性を示した。

図4は、「GPRv21」のアミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に 対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。BOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPT OR TYPE 2 に対して 30%の相同性を示した。

図5は、「GPRv40」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。OXYTOCIN RECEPTOR (P97926)に対して 34%の相同性を示した。

図 6 は、「GPRv47」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。GPRX_ORYLA PROBABLE G PROTEIN -COUPLED RECEPTOR (Q91178)に対して 43%の相同性を示した。

図7は、「GPRv51」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR RTA (P23749)に対して 37%の相同性を示した。

図8は、「GPRv71」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (Q9 8907)に対して 45%の相同性を示した。

図9は、「GPRv72」アミノ酸配列を「Query」にして、SWISS-PROT 全配列に対する BLAST 検索を行った結果を示す図である。ALPHA-1A ADRENERGIC RECEPTOR (002824)に対して 30%の相同性を示した。

図10は、GPRv8のハイドロバシープロットを示す図である。

図11は、GPRv8と類似ファミリーとのアライメントを示す図である。

'*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。

':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}

- '.' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{N EQHRK}
 - 図12は、図11の続きである。
 - 図13は、GPRv12のハイドロパシープロットを示す図である。
 - 図14は、GPRv12と AF208288 のアラインメントを示す図である。
 - '*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。
 - ':'はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。 $\{STA\}, \{NEQK\}, \{NHQK\}, \{NDBQ\}, \{QHRK\}, \{MILV\}, \{MILF\}, \{HY\}, \{FYW\}\}$
 - '.' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}
 - 図15は、GPRv16のハイドロパシープロットを示す図である。
 - 図16は、GPRv16のHMMPFAM、膜貫通領域およびS-S結合についてまとめた図である。

***はHMMPFAMの結果7tm_1とアサインされた領域を示す。

###は膜貫通領域を示す。

@は S-S 結合を形成する Cys を示す。

- 図17は、GPRv21のハイドロバシープロットを示す図である。
- 図18は、GPRv21とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。
 - '*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。
- ':'はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。 $\{STA\}, \{NEQK\}, \{NHQK\}, \{NDBQ\}, \{QHRK\}, \{MILV\}, \{MILF\}, \{HY\}, \{FYW\}\}$
- '.' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{NEQHRK}

- 図19は、図18の続きである。
- 図20は、GPRv40のハイドロパシープロットを示す図である。
- 図21は、GPRv40のHMMPFAM、膜質通領域およびS-S結合についてまとめた 図である。

***はHMMPFAMの結果 $7tm_1$ とアサインされた領域を示す。

###は膜貫通領域を示す。

@は S-S 結合を形成する Cys を示す。

- 図22は、GPRv47のハイドロパシープロットを示す図である。
- 図23は、GPRv47とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。
 - '*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。
- ':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}
- '.' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{N EQHRK }
 - 図24は、図23の続きである。
 - 図25は、図24の続きである。
 - 図26は、GPRv51のハイドロパシープロットを示す図である。
 - 図27は、GPRv51と類似タンパクとのアラインメントを示す図である。
 - '*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。
 - ':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}
 - '.' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{N EQHRK }

図28は、GPRv71のハイドロバシープロットを示す図である。

- 図29は、GPRv71とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。
 - '∗' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。
- ':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}
- · . ' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{N EQHRK }
 - 図30は、図29の続きである。
 - 図31は、GPRv72のハイドロパシープロットを示す図である。
 - 図32は、GPRv72とその類似タンパクのアラインメントを示す図である。
 - '*' はその位置で全ての配列で完全に保存されていることを意味する。
 - ':' はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{STA},{NEQK},{NHQK},{NDBQ},{QHRK},{MILV},{MILF},{HY},{FYW}
 - · . , はその位置で次のようなグループの内のいずれかが保存されている事 を意味する。{CSA},{ATV},{SAG},{STNK},{STPA},{SGND},{SNDEQK},{NDEQHK},{N EQHRK }
 - 図33は、図32の続きである。
 - 図34は、図33の続きである。

発明を実施するための最良の形態

次に、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明は下記実施例 に限定されるものではない。なお、特に断りがない場合は、公知の方法 (Mania tis, T. at al.(1982):"Molecular Cloning - A Laboratory Manual" Cold Sp ring Harbor Laboratory, NY) に従って実施可能である。

[実施例1] 新規 G 蛋白質共役型受容体をコードする遺伝子の単離

本発明の新規 G 蛋白質共役型受容体 (GPRv8, GPRv12, GPRv16, GPRv21, GPRv40, GPRv47, GPRv51, GPRv71, GPRv72) をコードする全長 cDNA は、PCR により取得した。

取得した。
新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv8 の増幅にはヒト胎児由来の Marathon Ready cDNA (Clontech 社)を鋳型 cDNAに、フォワードプライマーとして 5'-ATGCCAGC CAACTTCACAGAGGGCAGCT-3'(配列番号:9)、リバースプライマーとして 5'-CTA CATGAATTCTGGCTTGGACAGAATC-3'(配列番号:10)を用いた。PCR は Pyrobest GATGAATTCTGGCTTGGACAGAATC-3'(配列番号:10)を用いた。PCR は Pyrobest DNA polymerase (宝酒造)を用い、94°C (2.5分)の後、94°C (30秒) /60°C (30秒) /72°C (1分)のサイクルを 25 回繰り返した。その結果、約 1.1 kbp (30秒) /72°C (1分)のサイクルを 25 回繰り返した。その結果、約 1.1 kbp の DNA 断片が増幅された。この断片を pCR2.1 plasmid (Invitrogen 社)を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター てクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター 法により AB1377 DNA Sequencer (Applied Biosystems 社)を用いて解析した。 法により AB1377 DNA Sequencer (Applied Biosystems 社)を用いて解析した。

同配列は1116塩基のオープンリーディングフレーム(配列番号:5の第1番目から第1116番目)を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列(371アミノ酸)を配列番号:1に示す。予想アミノ酸配列はれるアミノ酸配列(371アミノ酸)を配列番号:1に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすること域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることがある。

が判明した。
新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv12 の増幅にはヒト胎児脳由来の Marathon Rea 新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv12 の増幅にはヒト胎児脳由来の Marathon Rea dy cDNA (Clontech 社)を鋳型 cDNA に、フォワードプライマーとして 5'-ATGGG ccccGGCGGGGGCGCTGCTGGCGG-3'(配列番号:11)、リバースプライマーとして 5 cccCGGCGAGGCGCTGCTGCAGGCAGGAATCA-3'(配列番号:12)を用いた。PCR は Pyro -TCAGTGTGTCTGCTGCAGGCAGGAATCA-3'(配列番号:12)を用いた。PCR は Pyro best DNA polymerase (宝酒造)を用い 5%ホルムアミド存在下で、94°C (2.5分 best DNA polymerase (宝酒造)を用い 5%ホルムアミド存在下で、94°C (2.5分 best DNA polymerase (宝酒造)を用い 5%ホルムアミド存在下で、94°C (4分) のサイクルを 5 回、94°C (5秒) /70°C (4分) のサイクルを 5 回、94°C (5秒) / 68°C (4分) のサイクルを 25 回繰り返 分) のサイクルを 5 回、94°C (5秒) / 68°C (4分) のサイクルを 25 回繰り返

した。その結果、約1.1 kbpの DNA 断片が増幅された。この断片を pCR2.1 plas mid (Invitrogen 社) を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列は、ジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied Bios ystems 社)を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号:6 に示す。

同配列は1092 塩基のオープンリーディングフレーム(配列番号:6の第1番目から第1092番目)を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列(363アミノ酸)を配列番号:2に示す。予想アミノ酸配列はれるアミノ酸配列(363アミノ酸)を配列番号:2に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが到明した。

同配列は 1260 塩基のオープンリーディングフレーム(配列番号:7の第1番目から第 1260 番目)を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列(419 アミノ酸)を配列番号:3に示す。予想アミノ酸配列はれるアミノ酸配列(419 アミノ酸)を配列番号:3に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv21 の増幅にはヒト胎児由来の Marathon Ready cDNA (Clontech 社)を鋳型 cDNAに、フォワードプライマーとして 5'-ATGGAGA CCACCATGGGGGTTCATGGATG-3'(配列番号:15)、リバースプライマーとして 5'- CCACCATGGGGGTTCATGCAGTCCACCTCTTC-3'(配列番号:16)を用いた。PCR は Pyro TTATTTTAGTCTGATGCAGTCCACCTCTTC-3'(配列番号:16)を用いた。PCR は Pyro DNA polymerase (宝酒造)を用い、5% ホルムアミド存在下で、94℃(2.5 best DNA polymerase (宝酒造)を用い、5% ホルムアミド存在下で、94℃(2.5 best DNA polymerase (宝酒造)を用い、5% ホルムアミド存在下で、94℃(5秒)/70℃(分)の後、94℃(5秒)/70℃(4分)のサイクルを 5回、94℃(5秒)/68℃(4分)のサイクルを 25 回繰り (4分)のサイクルを 5回、94℃(5秒)/68℃(4分)のサイクルを 25 回繰り をした。その結果、約 1.2 kbp の DNA 断片が増幅された。この断片を pCR2.1 pl をした。その結果、約 1.2 kbp の DNA 断片が増幅された。この断片を pCR2.1 pl を別はジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied Bios 列はジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied Bios ystems 社)を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号:8に示す。

同配列は1182 塩基のオープンリーディングフレーム (配列番号:8) を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列 (393 アミノ酸) を配列番号:4に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜質通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv40 の増幅にはヒト胎児由来の Marathon Ready cDNA (Clontech 社)を鋳型 cDNA に、フォワードプライマーとして 5'-ATGGAGG ATCTCTTTAGCCCCTCAATTC-3'(配列番号: 27)、リバースプライマーとして 5'-CTAGAAGGCACTTTCGCAGGAGCAAGGC-3'(配列番号: 28)を用いた。PCR は Pyrobe st DNA polymerase (宝酒造)を用い、5% ホルムアミド存在下で、98°C (2.5 st DNA polymerase (宝酒造)を用い、5% ホルムアミド存在下で、98°C (2.5 st DNA polymerase (宝酒造)を用い、5% ホルムアミド存在下で、98°C (5秒) /70 分)の後、98°C (5秒) /72°C (4分)のサイクルを5回、98°C (5秒) /70 のサイクルを5回、98°C (5秒) /68°C (4分)のサイクルを25°C (4分)のサイクルを5回、98°C (5秒) /68°C (4分)のサイクルを25つにより ABI377 DNA Sequencer (Applied 塩基配列はジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied 塩基配列はジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied

Biosystems 社)を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号:22に示す。

す。
同配列は 1305 塩基のオープンリーディングフレーム (配列番号: 22) を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列 (434 アっている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列 (434 アっている) を配列番号: 17に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体 の特徴である 7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることかの特徴である 7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

同配列は 1356 塩基のオープンリーディングフレーム (配列番号:23) を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列 (451 アっている) を配列番号:18に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv51 の増幅にはヒト精巣由来の Marathon Ready cDNA (Clontech 社) を鋳型 cDNA に、フォワードプライマーとして 5'-ATGAACC AGACTTTGAATAGCAGTGG-3'(配列番号:31)、リバースプライマーとして 5'-TC

AAGCCCCCATCTCATTGGTGCCCACG-3'(配列番号:32)を用いた。PCR はPyrobest DNA polymerase (宝酒造)を用い、98°C(2.5分)の後、98°C(30秒)/50°C(30秒)/68°C(4分)のサイクルを35回繰り返した。その結果、約1.0°kbpのDNA 断片が増幅された。この断片をpCR2.1 plasmid (Invitrogen社)を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied Biosystems社)を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号:24に示す。

同配列は966 塩基のオープンリーディングフレーム (配列番号:24) を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列 (321 アっている) を配列番号:19に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv71 の増幅にはヒト胎児由来の Marathon Ready cDNA (Clontech 社)を鋳型 cDNA に、フォワードプライマーとして 5'-ATGGAGA AGGTGGACATGAATACATCAC-3'(配列番号:33)、リバースプライマーとして 5'-TTACCCAGATCTGTTCAACCCTGGGCATC-3'(配列番号:34)を用いた。PCR は Pyrob est DNA polymerase (宝酒造)を用い、94°C (2.5分)の後、98°C (5秒)/72°C (4分)のサイクルを 5回、98°C (5秒)/70°C (4分)のサイクルを 5回、98°C (5秒)/70°C (4分)のサイクルを 5回、98°C (5秒)/68°C (4分)のサイクルを 25回繰り返した。その結果、約1.0 kbpの DNA 断片が増幅された。この断片を pCR2.1 plasmid (Invitrogen 社)を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied Biosystems 社)を用いて

同配列は1002塩基のオープンリーディングフレーム(配列番号:25)を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列(333アミノ酸)を配列番号:20に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体

の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることか ら、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

新規 G 蛋白質共役型受容体 GPRv72 の増幅にはヒトゲノム DNA (Clontech 社)を鋳型 DNA に、フォワードプライマーとして 5'-ATGACGTCCACCTGCACCAACAGCACG C-3'(配列番号:35)、リバースプライマーとして 5'-TCAAGGAAAAGTAGCAGAAT CGTAGGAAG-3'(配列番号:36)を用いた。PCR は Pyrobest DNA polymerase (空酒造)を用い、94°C(2分)の後、94°C(30秒)/55°C(30秒)/68°C(4分)のサイクルを 30回繰り返した。その結果、約1.5 kbpの DNA 断片が増幅された。この断片を pCR2.1 plasmid (Invitrogen 社)を用いてクローニングした。得られたクローンの塩基配列はジデオキシターミネーター法により ABI377 DNA Sequencer (Applied Biosystems 社)を用いて解析した。明らかになった配列を配列番号:26に示す。

同配列は 1527 塩基のオープンリーディングフレーム (配列番号:26) を持っている。オープンリーディングフレームから予測されるアミノ酸配列 (508 アミノ酸) を配列番号:21に示す。予想アミノ酸配列は、G蛋白質共役型受容体の特徴である7個の膜貫通ドメインと思われる疎水性領域を有していることから、本遺伝子がG蛋白質共役型受容体をコードすることが判明した。

[実施例2] 新規 G 蛋白質共役型受容体のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索

「GPRv8」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図1に 示した。「GPRv8」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では HUMAN VASOPRESSIN V1 B RECEPTOR (P47901, 424aa)に対して、36%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv8」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv12」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図2に 示した。「GPRv12」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では RAT 5-HYDROXYTRYPTA

MINE 6 RECEPTOR (P31388, 436aa)に対して、27%で最も高い相同性を示した。 このことから「GPRv12」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv16」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図3に示した。「GPRv16」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では MOUSE GALANIN RECEP TOR TYPE 1 (P56479, 348aa)に対して、28%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv16」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv21」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図4に 示した。「GPRv21」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では「GPRv21」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では BOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPTOR TYPE 2 (P79113 , 384aa)に対して 30%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv21」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

「GPRv40」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図5に 示した。「GPRv40」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せず、OXYTOCIN RECEPTOR (P97926, 388aa)に対して 34%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv40」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

た。 「GPRv47」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図 6 に 示した。「GPRv47」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せ ず、GPRX_ORYLA PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR (Q91178, 428aa)に対 して 43%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv47」が新規 G 蛋白質共 役型受容体であることが判明した。

「GPRv51」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図7に示した。「GPRv51」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せず、PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR RTA (P23749, 343aa)に対して 37%で最も高い相同性を示した。このことから「GPRv51」が新規 G 蛋白質共役型受容体であることが判明した。

PCT/JP00/09408 WO 01/48188

-36-

「GPRv71」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図 8 に 示した。「GPRv71」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せ ず、Chicken P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (Q98907, 328aa)に対して 45%で最も 高い相同性を示した。このことから「GPRv71」が新規 G 蛋白質共役型受容体で あることが判明した。

「GPRv72」のアミノ酸配列での SWISS-PROT に対する BLAST 検索結果を図9に 示した。「GPRv72」は既知 G 蛋白質共役型受容体の中では同一なものは存在せ ず、ALPHA-1A ADRENERGIC RECEPTOR (002824, 466aa)に対して 30%で最も高い 相同性を示した。このことから「GPRv72」が新規 G 蛋白質共役型受容体である ことが判明した。

[実施例3] 発現組識解析

1. 試薬

1.1 定量用 polymerase chain reaction (PCR)プライマー及び TaqMan プロー プ:センスプライマー、アンチセンスプライマー、及び TagMan プローブは PE B iosystems の遺伝子解析ソフトウェア Primer Express version 1.0 を用いて設 計した。通常のプライマーはアマシャム・ファルマシア・バイオテク (東京) に 、TaqMan プローブは PE Biosystems Japan に製造を依頼した。なお、TaqMan ブ ローブは、5'端にはリポーター色素 FAM を、3'端にはクエンチャーtamra を結合 させた。プライマー及び TaqMan プローブの塩基配列を下に示す。

GPRv8 用合成 DNA

PCR プライマー G8.957F: CCAGGAGCGTTTCTATGCCT (配列番号:37)

G8.1082R: TGTGATCTTTGCTCCCTGCA (配列番号: 38)

TaqMan プローブ GPRv8.987T:TCAGAACCTGCCAGCATTGAATAGTGCC (配列番号:3 9)

GPRv12 用合成 DNA

PCR プライマー G12.794F: ATCTGCTTTGCCCCGTATGT (配列番号: 40)

G12.903R: ACCGCCTTGCTGTAGGTCAG(配列番号: 41)

TaqMan プローブ GPRv12.834T:TCGTGCCCTTCGTCACCGTGAA (配列番号: 42) GPRv16 用合成 DNA

PCR プライマー G16.1133F: CCCAGCATCCATACCAGAAAA (配列番号: 43)
G16.1254R: CTGTGTCCCTCTCATGCCAAA (配列番号: 44)

TaqMan プローブ GPRv16.1193T:TGAGAAGGCAGAGATTCCCATCCTTCCT (配列番号: 45)

GPRv21 用合成 DNA

PCR プライマー G21.989F: TCGCCATGAGCAACAGCAT (配列番号: 4 6)
G21.1114R: CACTGGACTTACCGCCATTGT (配列番号: 4 7)

TaqMan プローブ GPRv21.1064T:AGATCATGTTGCTCCACTGGAAGGCTTCT (配列番号: 48)

GPRv40 用合成 DNA

PCR プライマー G40.16F: GGATCTCTTTAGCCCCTCAATTC (配列番号: 49)
G40.99R: AAGGTCAGGTTGAGACCCCAG (配列番号: 50)

TaqMan プローブ GPRv40.53T:AACATTTCCGTGCCCATCTTGCTGG (配列番号: 5 1)
GPRv47 用合成 DNA

PCR プライマー G47.1292F: GCTGTTGACTTTCGAATCCCA (配列番号: 5 2)
G47.1393R: ACGGAGGTAGCTGTCTGACATGA (配列番号: 5 3)

TaqMan プローブ GPRv47.1336T:TGAGTTCCTGGAGCAGCAACTCACCA (配列番号:54)

GPRv51 用合成 DNA

PCR プライマー G51.190F: GGCTTTCGAATGCACAGGAA (配列番号:55)
G51.276R: GGAAGCCATGCTGAAGAGGA (配列番号:56)

TaqMan プローブ GPRv51.214T:TTCTGCATCTATATCCTCAACCTGGCGG (配列番号: 57)

-38-

GPRv71 用合成 DNA

PCR プライマー G71.746F: TGGCCTCTTCACCCTCTGTTT (配列番号:58)

G71.841R: ATCAAGAGCTGGCAGTCCTGA (配列番号: 59)

TaqMan プローブ GPRv71.775T:TCCATATCACTCGCTCCTTCTACCTCACCA (配列番号: 60)

GPRv72 用合成 DNA

PCR プライマー G72.101F: CCAAAATGCCCATCAGCCT (配列番号: 6 1)

G72.190R: GCACTATGTTGCCGACGAAA (配列番号: 62)

TaqMan プローブ GPRv72.132T:CATCCGCTCAACCGTGCTGGTTATCT (配列番号:63)

1.2 疾患由来 cDNA

同一患者の腫瘍および正常組織由来の cDNA は、Clontech の Matched cDNA Pairs を用いた。組織は肺、胃、結腸、卵巣、前立腺、子宮、および腎臓である。

腫瘍患者および正常成人の脳、膵臓、精巣、肝硬変患者および正常成人の肝臓、ループス病患者の腎臓、アルツハイマー病(AD)患者および正常成人の海馬及び前頭葉に由来する cDNA は、BioChain Institute から購入して用いた。

1.3 定量 PCR 反応用試薬:

TaqMan Universal PCR Master Mix (PE Biosystems) を使用した。内部標準測定用として TaqMan eta-actin Control Reagents (PE Biosystems) を用いた

2. 定量 PCR 反応:

1) 鋳型 cDNA の希釈

BioChain の cDNA は水にて 50 倍希釈し、Clontech の cDNA は水にて 5 倍希釈 して用いた。

 マスターミックスの調製 以下の組成の反応溶液を調製した。

	反応容量	調製容量
2×Master Mix	12.5μ l	1380 µ l
tンスフ°ライマ- (50μM)	0.5μ l	55.2μ l
アンチセンスフ°ライマー(50μM)	0.5μ l	55.2μ l
TaqMan Probe $(5\mu\text{M})$	1μ l	110.4 μ l
鋳型 cDNA	2.5μ l	
精製水	8μ1	883.2 µ l
総量	25μ1	2484 μ l

3) PCR 反応溶液の作成

マスターミックス溶液 54μ l に鋳型 cDNA を 6μ l 加えた後、定量 PCR 装置用の PCR プレートに 25μ l ずつ duplicate でサンプル用ウェルに分注した。Non template control 用の 2 ウェルには上記マスターミックスを 25μ l ずつ分注した。標準曲線の作成には pCEP4 ベクターにサブクローニングした cDNA を 100pg/ μ l から始めて 1/10 ずつ 8 段階希釈したものを利用した。 2)のマスターミックス 54μ l と Standard 液 6μ l を加えたものから、 25μ l ずつを Standard 用ウェルに分注した。即ち、 Standard 用ウェルには最も高濃度のもので 250pg、低濃度で 25ag(a: atto, 10^{-18})のプラスミド DNA が入ることになる。 8 連のキャップを装着した後、軽く遠心し気泡を除いた。

4) PCR 反応

プレートを定量 PCR 装置 (GeneAmp 5700 Sequence Detection System: PE Bi osystems) にセットし、以下の運転プログラムで反応させた。

- ① 50℃, 2分 : 1サイクル
- ② 95℃, 10分:1サイクル
- ③ 95℃, 15秒 ; 50 サイクル 60℃, 1分 ;

5) 定量解析

-40-

GeneAmp 5700 の操作マニュアルに従い、定量解析を行い出力した。

3. 結果およびまとめ:

ヒト正常および疾患患者の臓器由来 cDNA を用いた GPCR の発現プロファイルは、アクチン遺伝子の発現量を内部標準として相対的な比を求め、2回の実験の平均を表1にまとめた。

-41-

表 1

		relative copy number							
	GPRv8	GPRv12	GPRv16		GPRv40		GPRv51	GPRv71	GPRv72
Brain Normal	¹⁰ . 0	0	1	0	6	9	0	0	C
Tumor		2	11.	0	23	76	2	5	
Lung Normal	0	0	1	0	11	0	1	1	Ç
Tumor	1	0	1	0	11	2	1		1
Stomach Normal	6	0	. 0	0	29	. 0	1	1	(
Tumor	3	0	2	0	1	<u> </u>	3	0	
Pancreas Normal	0	0	0	0	4	0	0	0	
Turnor		2	0	<u>, , , , , , , , , , , , , , , , , , , </u>	23	2	3	4	<u>;;</u>
Colon Normal		0	61		119	50	111	44	113
Turnor	2766	<u> </u>	0	0.	110	21			
Ovary Normal		0	1	0	2	1	2	1	
Tumor	0		0	0	21				
Uterus Normal		. 0	3.	0	/	0	- 31		
Tumor		0			18				
Prostate Normal		v	Ŏ	0	10	'n	9	,	ì
Tumor	<u>6</u>			<u>-</u>		22	20		
Testis Normal Turnor		3	13		21	. 3	3	2	
				ñ	29		27		
Kidney Normal Turnor	9	0	0	n	28	10	15	Ŏ	
Lupus	" 25	ŏ	1	ō	1	0	3	1	
Liver Normal		······································	10	·ō	27		13	5	
Cirrhosis		D	0	0	- 4	0	2	0	×
Hippocampus Normal		12	4	ō	40	113	2	5	
AD		1	50	3	111	63	55	12	2
Frontal lobe Normal		2	8	Ō	16	140	3	8)
AD		1.4		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	9	29	2	2	

3倍以上の発現変化が再現された場合、有意と考える。1) 印のある臓器由来 c DNA は BioChain から購入したものであり、印のない臓器由来 cDNA は Clontech から購入したものである。以下に、個々の遺伝子の疾患による発現変化をまとめる。

GPRv8 は正常の膵臓および子宮では発現が検出できなかったが、癌化で中等度 発現した。結腸で強く発現するが、結腸癌でさらに強力に発現した。

GPRv12 は全体的に発現が弱かった。正常卵巣および精巣では発現が検出できなかったが、癌化で発現が検出できた。アルツハイマー病では海馬での発現が減少した。

GPRv16 は、結腸で発現しているが、癌化で発現が検出できなくなった。脳では癌化で発現が増加した。肝臓では肝硬変により発現が検出できなくなった。アルツハイマー病脳では海馬で発現が増強した。

GPRv21 は、発現は少ないが、癌化により結腸及び精巣での発現が検出できなくなった。

GPRv40 は、癌化により脳、精巣での発現が増加した。肝硬変により発現が減少した。

GPRv47 は、癌化により脳、腎臓での発現が増加し、精巣での発現が減少した。肝臓での発現が肝硬変で検出できなくなった。

GPRv51 は、結腸で強く発現しているが癌化により発現が減弱した。精巣では 癌化により発現が減少した。肝硬変の肝臓でも正常と比較して発現が減少した。 脳では発現が弱いが、アルツハイマー病において海馬で発現が増大した。

GPRv71 は、癌化により結腸および腎臓での発現が減少した。肝硬変の肝臓では発現が検出できなくなった。アルツハイマー病では前頭葉での発現が減少した。

GPRv72 は、結腸では強く発現しているが癌化で発現が検出できなくなった。 脳では発現が弱いが、アルツハイマー病の海馬で発現が増大した。

[実施例4] バイオインフォーマティクスによる GPRv8 の解析

1. GPRv8 のホモロジー検索

GPRv8のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表2に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv8はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv8のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0)を用いて検索した結果 (E-value が e-39未満のもの)を表2に示す。

表 2

Hit (ID)	E-value	Identities	Description
		%	
AE003754	2e-68	43	gene: "CG6111" - Drosophila
			melanogaster
AF147743	7e-43	33	vasotocin VT1 receptor -
			Gallus gallus
AF184966	2e-42	33	arginine vasotocin receptor -
			Platichthys flesus
X93313	4e-42	36	mesotocin receptor - giant toad
X76321	8e-42	32	vasotocin receptor - white sucker
X87783	4e-41	33	isotocin receptor - white sucker
X64878	3e-40	32	oxytocin receptor - H.sapiens
U82440	7e-40	32	oxytocin receptor - Macaca mulatta

GPRv8のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), J.Mol.Biol., 157,105-132.)によりハイドロバシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv8 は7個の膜貫通部位(TM $1\sim TM7$)を有することが判明した(図 1 0 0 0

3. HMMPfam 検索

GPRv8のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv8 は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表3に、HMMPfam 検索の結果を示す。 -44-

表3

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	164.2	5.1e-51	66	330	7 transmembrane recepto
					r (rhodopsin family)

Hit:検索の結果推定されるドメインの名前。

Score:この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext:この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description:推定されたドメインの説明

4. アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いてGPRv8と表 2 のタンパクのアミノ酸配列のアライメントをおこなった(図 1 1、1 2)。GPRv8は 7 個の膜貫通部位(### ###)を有し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys(@をつけたCys)を有することが判明した。

[実施例5] バイオインフォーマティクスによる GPRv12 の解析

1. GPRv12 のホモロジー検索

GPRv12のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.,(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表4に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv12は GPCR と相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv12のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0)を用いて検索した結果 (E-valueが e -15 未満のもの)を表4に示す。

-45-

表 4

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AF208288	8e-88	50	orphan G protein-coupled receptor GPR26 - Rattus norvegicus
L03202	2e-17	24	5-hydroxytryptamine receptor - rat
L41146	5e-17	23	5-HT6 serotonin receptor - Rattus norvegicus
S62043	2e-16	25	serotonin receptor 6 - rat
L41147	2e-16	24	5-HT6 serotonin receptor - Homo sapiens
AF134158	4e-16	23	serotonin 6 receptor - Mus musculus
L14856	4e-16	26	somatostatin receptor 4 - Human
Y14627	5e-16	21	Dopamine receptor - Cyprinus carpio
L07833	6e-16	26	somatostatin receptor 4- Homo sapiens
AF069547	8e-16	21	putative odorant receptor LOR4 - Lampetra fluviatilis

GPRv12のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J. Kyte and R.F. Doolittle, (1982), J. Mol. Biol., 157, 105-132.)によりハイドロパシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv12は7個の膜貫通部位 (TM1~TM7)を有することが判明した(図13)。

3. HMMPfam 検索

GPRv12のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv12 は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表 5 に HMMPfam 検索の結果を示す。 -46-

表 5

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm_1	74.7	7.7e-23	22	294	7 transmembrane receptor
					(rhodopsin family)

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4. アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いて GPRv12と orphan G protein-coupled receptor GPR26 - Rattus norvegicus (AF208288) とのアミノ酸配列のアライメントをおこなった (図14)。GPRv12は7個の膜貫通部位(### ###)を有し、GPCR に特有の SS 結合を行うと考えられる Cys (@をつけた Cys)を有することが判明した。 [実施例 6] バイオインフォーマティクスによる GPRv16 の解析

1. GPRv16 のホモロジー検索

GPRv16のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表6に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv16は GPCR と相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv16のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0)を用いて検索した結果 (E-valueがe-18未満のもの)を表6に示す。

-47-

表 6

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AF042784	4e-20	23	GALANIN RECEPTOR TYPE 2 -
			Mus musculus
U30290	4e-20	27	galanin receptor GALR1 -
			Rattus norvegicus
U90657	6e-20	27	GALANIN RECEPTOR TYPE 1 - mouse
AF042782	7e-20	25	galanin receptor type 2 -
1.2 0 0.0			Homo sapiens
U94322	1e-19	24	galanin receptor type2 -
			Rattus norvegicus
AF077375	6e-19	23	galanin receptor type2 -
			Mus musculus

GPRv16 のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J. Kyte and R.F. Doolittle, (1982), J. Mol.Biol., 157,105-132.)によりハイドロバシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv16 は7個の膜貫通部位 (TM1~TM7) を有することが判明した(図15)。

3. HMMPfam 検索

GPRv16のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv16 は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表7に、HMMPfam 検索の結果を示す。 -48-

表 7

r-	Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
-	7tm_1	23.8	8.3e-7	155	306	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)
-	7tm_1	13.3	0.0017	53	133	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)
				<u> </u>		(Thodopolii

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4.

3. と 4. の結果を図 1 6 にまとめた。GPRv16 は GPCR に特徴的な S-S 結合を形成する Cys (@) を有することが判明した。

[実施例7] バイオインフォーマティクスによる GPRv21 の解析

1. GPRv21 のホモロジー検索

GPRv21のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.,(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表8に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv21は GPCR と相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv21のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0)を用いて検索した結果 (E-valueが e-35 未満のもの)を表8に示す。

PCT/JP00/09408 WO 01/48188

-49-

表8

			表8
		Identities	Description
Hit (ID)	E-value		
		<u>%</u>	G-protein coupled receptor - Human
AL121755	0.0	89	G-protein coupled receptor GPR73 -
AF236082	0.0	83	Muc miscillis
At 200005			neuropeptide receptor - D.melanogaste
M81490	9e-37	34	neuropeptide recoper
MO1430			type 2 neuropeptide Y receptor -
1150144	3e-36	30	Bos taurus
U50144	0000		neuropeptide y2 receptor - Human
**********	6e-36	29	cardioexcitatory receptor -
U42766		28	cardioexcitatory records
AF037444	06-20		Lymnaea stagnalis
	20. 26	28	neuropeptideY-Y2 receptor -
D86238	8e-36		Mus musculus
	000	29	neuropeptide y/peptide YY receptor
U42389	8e-36	20	type 2 - Nimali
		29	neuropeptide Y receptor type 2 - Hum
U76254	8e-36	23	n
	<u></u>		

2. 膜貫通部位の予測

GPRv21 のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J.Kyte and R.F.Doo little, (1982), J.Mol.Biol., 157,105-132.)によりハイドロバシープロット を作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv21 は7個の膜貫通部位 (TM1~TM7) を有することが判明した(図17)。

3. HMMPfam 検索

GPRv21 のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検 索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., Nucleic Acids Res 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer. wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac. uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv21 は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表 9 に、HMMP fam 検索の結果を示す。

-50-

表 9

Hit 7tm_1	Score 188.1	Expect 1.6e-58	Q from 79	Q to 338	Description 7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4. アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いて GPRv21 と表8のタンパクとのアミノ酸配列のアライメ ントをおこなった(図18、19)。GPRv8は7個の膜貫通部位(### ###)を 有し、GPCR に特有の SS 結合を行うと考えられる Cys (@をつけた Cys) を有する ことが判明した。

[実施例8] バイオインフォーマティクスによる GPRv40 の解析

1. GPRv40 のホモロジー検索

GPRv40 のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/), GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nl m.nih.gov/), PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/) である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.,(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表10に 示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv40 は GPCR と相同性 を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv40のアミノ酸配列を既 知配列に対して解析プログラム (blast2.0) を用いて検索した結果 (E-value が e-11 未満のもの) を表 1 0 に示す。

表10

		Identities %	Description
Hit (ID)	E-value		oxytocin receptor - Mus sp.
D86599	1e-13	23	oxytocin receptor -
U15280	4e-13	23	pattus norvegicus
		22	vasotocin receptor - white sucke
X76321	1e-12		r
	0 10	21	oxytocin receptor - H.sapiens
X64878	2e-12	21	isotocin receptor - C.commersoni
X87783	2e-12		receptor VID - lat
D45400	3e-12	23	vasopressin receptor subtype 1b
L37112	3e-12	24	- Homo sapiens
			arginine-vasopressin V1b recept
U27322	6e-12	23	r - Rattus norvegicus
		01	oxytocin receptor -
U82440	6e-12	21	Macaca mulatta

GPRv40 のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J.Kyte and R.F.Doo little, (1982), J.Mol.Biol., 157,105-132.)によりハイドロバシープロット を作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv40 は7個の膜貫通部位 (TM1~TM7) を有することが判明した(図20)。

3. HMMPfam 検索

GPRv40 のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検 索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., Nucleic Acids Res 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer. wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac. uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv40は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表11に、HMMPfam検索の結果を示す。

-52-

表11

			衣工	1	
			0 6-07	0 to	Description
Hit	Score	Expect	Q from		7 transmembrane receptor
	26.5	1.1e-07	228	352	(rhodopsin family)
7tm_1	20.0				(rhodopsin lamily)
		5e-05	59	181	7 transmembrane receptor
7tm_1	18.1	26-03	00		(rhodopsin family)
	į			1	
l	J				

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が 0 に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4.

3. と4. の結果を図21にまとめた。GPRv40はGPCRに特徴的なS-S結合を 形成する Cys (@) を有することが判明した。

[実施例9] バイオインフォーマティクスによる GPRv47 の解析

1. GPRv47 のホモロジー検索

GPRv47のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/), GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nl m.nih.gov/), PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/) である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.,(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表12に 示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv47は GPCR と相同性 を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv47のアミノ酸配列を既 知配列に対して解析プログラム (blast2.0) を用いて検索した結果 (E-value が e-11 未満のもの) を表 1 2 に示す。

表12

			表 1 4
Hit (ID)	E-value	Identities	Description
D43633	1e-85	41	G protein-coupled seven-transmembran e receptor - Medaka fish
X98133	2e-28	27	histamine H2 receptor - H.sapiens
M32701	3e-28	28	histamine H2 receptor - Canine histamine
L41147	6e-28	31	5-HT6 serotonin receptor - Homo sapiens
U25440	8e-28	26	histamine H2 receptor - Cavia porcellus
		00	histamine H2 receptor - Human
D49783	1e-27	28	alpha 1d adrenoceptor -
U64032	2e-27	27	Oryctolagus cuniculus
070470	3e-27	28	beta 3-adrenergic receptor - rats
\$73473		28	beta-adrenergic receptor - Rat
M74716	4e-27	$\frac{20}{27}$	histamine H2-receptor - rats
\$57565	6e-27	1 41	

GPRv47のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), J.Mol.Biol., 157,105-132.)によりハイドロバシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv47は7個の膜貫通部位 (TM1~TM7) を有することが判明した(図22)。

3. HMMPfam 検索

GPRv47のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., Nucleic Acids Res 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv47は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表13に、HMMPfam 検索の結果を示す。

PCT/JP00/09408 WO 01/48188

-54-

表13

Hit 7tm_1	Score 137.9	Expect 9.6e-43	Q from	Q to 341	Description 7 transmembrane receptor (rhodopsin family)	į
			l	L		

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が 0 に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4. アミノ酸配列のアライメント

Clustalw 1.7を用いてGPRv47と類似タンパクとのアミノ酸配列のアライメン トをおこなった (図23~25)。GPRv8は7個の膜貫通部位(### ###)を有 し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys (@をつけたCys) を有すること が判明した。

[実施例10] バイオインフォーマティクスによる GPRv51 の解析

1. GPRv51 のホモロジー検索

GPRv51のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/), GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nl m.nih.gov/), PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/) である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.(1 997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表14に 示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv51は GPCR と相同性 を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv51のアミノ酸配列を既 知配列に対して解析プログラム (blast2.0) を用いて検索した結果 (E-value が e-18 未満のもの) を表 1 4 に示す。

-55-

表14

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
M35297	4e-43	36	G-protein coupled receptor - Rat
J03823	1e-42	34	Rat mas oncogene, complete cds.
M13150	3e-40	34	mas proto-oncogene - Human
X67735	1e-39	35	Mas proto-oncogene - M.musculus mas
AL035542	1e-35	36	MAS-related G protein-coupled
11200012			recep tor MRG - Human

2. 膜貫通部位の予測

GPRv51のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J.Kyte and R.F.Doolittle, (1982), J.Mol.Biol., 157,105-132.)によりハイドロバシープロットを作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv51は7個の膜貫通部位 (TM1~TM7) を有することが判明した(図26)。

3. HMMP fam 検索

GPRv51のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer.wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv51 は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表 1 5 に HMMP fam 検索の結果を示す。

表 15

Γ	Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
	7tm_1	32.6	1.4e-09	44	78	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)
-	7tm_1	30.1	8.7e-09	104	276	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

-56-

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が 0 に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4. アミノ酸配列のアライメント

Clustalw1.7を用いてGPRv51とG-protein coupled receptor - Rat(M35297)とのアミノ酸配列のアライメントをおこなった(図 2 7)。GPRv51は7個の膜貫通部位(### ###)を有することが判明した。

[実施例11] バイオインフォーマティクスによる GPRv71 の解析

1. GPRv71 のホモロジー検索

GPRv71のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F. et al.,(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表16に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv71は GPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv71のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0)を用いて検索した結果 (E-valueがe-35未満のもの)を表16に示す。

表16

		Identities	Description
Hit (ID)	E-value		
		<u></u> %	G protein-coupled receptor p2y3 -
AF069555	9e-44	44	
	·		Meleagris gallopavo
			P2Y PURINOCEPTOR 3 - G. domesticus
X98283	9e-44	45	
	6e-41	40	P2Y nucleotide receptor -
AF031897			Meleagris gallopavo
		ļ	P2Y PURINOCEPTOR 8 - X.laevis
X99953	1e-39	41	novel G protein-coupled P2
D63665	2e-37	41	receptor - Rat
	<u> </u>	10	P2Y4 receptor gene -
Y14705	1e-36	40	Rattus norvegicus
	0. 26	41	P2Y4 receptor - Mus musculus
AJ277752	2e-36		

GPRv71 のアミノ酸配列を用いて Kyte-Doolittle の方法(J.Kyte and R.F.Doo little, (1982), J.Mol.Biol., 157,105-132.)によりハイドロバシープロット を作成し、膜貫通部位の予測を行った。その結果、GPRv71は7個の膜貫通部位 (TM1~TM7) を有することが判明した (図28)。

3. HMMPfam 検索

GPRv71 のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検 索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., Nucleic Acids Res 1998 Jan 1;26(1):3 20-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer.w ustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.u k/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv71は、tm7_1 (Rhodopsin family)を有することが判明した。 表17に、HMMPfam 検索の結果を示す。

-58-

表17

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	Description
7tm 1	90.6	7.6e-28	40	161	7 transmembrane receptor
					<u> </u>
					(rhodopsin family)

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4. アミノ酸配列のアライメント

Clustalw1.7を用いてGPRv71とその類似タンパクとのアミノ酸配列のアライメントをおこなった(図29、30)。GPRv71は7個の膜貫通部位(### ###)を有することが判明した。

[実施例12] バイオインフォーマティクスによる GPRv72 の解析

1. GPRv72 のホモロジー検索

GPRv72のアミノ酸配列を既知配列(既知配列データベースとは、EMBL(Release 64, http://www.ebi.ac.uk/)、GENBANK(Release 120.0, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)、PIR (Release 66.00, http://www-nbrf.georgetown.edu/pir/)である)に対して解析プログラム (BLAST2.0) (Altschul, Stephen F.et al.,(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.)を用いて検索したところ、表18に示す配列とホモロジーを有することが明らかになった。GPRv72はGPCRと相同性を有する、新規なクローンであることが判明した。GPRv72のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (blast2.0)を用いて検索した結果 (E-valueがe-24未満のもの)を表18に示す。

表18

Hit (ID)	E-value	Identities %	Description
AF091890	4e-29	32	G-protein coupled receptor RE2 - Homo sapiens
U81982	3e-25	30	alpha 1a-adrenoceptor - Oryctolagus cuniculus
\$71323	6e-25	32	alpha-1A adrenergic receptor - Japanese medaka
D63859	6e-25	32	alpha1A-adrenoceptor - Oryzias latipes
U07126	8e-25	29	alphalc adrenergic receptor - Rattus norvegicus
U03866	8e-25	30	adrenergic alpha-1c receptor protein - Human
AF013261	8e-25	30	alpha 1A adrenergic receptor isoform 4 - Homo sapiens
L31774	8e-25	30	alpha-1C-adrenergic receptor - Huma n
D32202	8e-25	30	alpha 1C adrenergic receptor isoform 2 - Human
D32201	8e-25	30	alpha 1C adrenergic receptor isoform 3 - Huma
D25235	8e-25	30	alpha1C adrenergic receptor

3. HMMPfam 検索

GPRv72のアミノ酸配列をクエリーとし、隠れマルコフモデルを用いた PFAM 検索 (HMMPFAM(Sonnhammer EL, et al., *Nucleic Acids Res* 1998 Jan 1;26(1): 320-322)) を行った。隠れマルコフモデルは HMMER version2.1(http://hmmer.

wustl.edu/)、PFAM データベースは Pfam Version 5.5 (http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml) を用いて検索した。

その結果、GPRv72 は、tm7_1 (Rhodopsin family) を有することが判明した。 表19に、HMMPfam 検索の結果を示す。

表19

Hit 7tm_1	Score 196.1	Expect 4.7e-61	Q from 48	Q to 454	Description 7 transmembrane recepto r (rhodopsin family)

Hit: 検索の結果推定されるドメインの名前。

Score: この値が高ければ高いほど信頼度が高い。

Expext: この値が 0 に近ければ近いほど信頼度が高い。

Q from: 推定されたドメインの開始位置

Q to: 推定されたドメインの終了位置

Description: 推定されたドメインの説明

4. アミノ酸配列のアライメント

Clustalw1.7を用いてGPRv72と表 18のタンパクとのアミノ酸配列のアライメントをおこなった(図 $32\sim34$)。GPRv72は 7 個の膜貫通部位(### ###)を有し、GPCRに特有のSS結合を行うと考えられるCys(@をつけたCys)を有することが判明した。

産業上の利用の可能性

本発明により、新規 G 蛋白質共役型受容体(GPRv8, GPRv12, GPRv16, GPRv21, GPRv40, GPRv47, GPRv51, GPRv71, GPRv72)、該蛋白質をコードする遺伝子、該遺伝子を含むベクター、該ベクターを含む宿主細胞、該蛋白質の製造方法が提供された。さらに、該蛋白質の活性を修飾する化合物のスクリーニング方法が提供された。本発明の蛋白質やその遺伝子、または本発明の蛋白質の活性を修飾

する化合物は、本発明の G 蛋白質共役型受容体蛋白質が関与する疾患の新しい 予防薬や治療薬の開発への利用が期待される。

請求の範囲

- 1. グアノシン三リン酸結合蛋白質共役型の受容体をコードする下記(a)から(d)のいずれかに記載のDNA。
- (a) 配列番号: 1から4、17から21のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質をコードする DNA。
- (b) 配列番号:5から8、22から26のいずれかに記載の塩基配列のコード 領域を含む DNA。
- (c)配列番号:1から4、17から21のいずれかに記載のアミノ酸配列において1もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失、付加および/または挿入したアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。
- (d) 配列番号:5から8、22から26のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする DNA。
- 2. 配列番号: 1から4、17から21のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質の部分ペプチドをコードする DNA。
- 3. 請求項1または2に記載のDNAを含有するベクター。
- 4. 請求項1または2に記載のDNAまたは請求項3に記載のベクターを保持する形質転換体。
- 5. 請求項1または2に記載のDNAによりコードされる蛋白質またはペプチド。
- 6. 請求項4に記載の形質転換体を培養し、該形質転換体またはその培養上清から発現させた蛋白質またはペプチドを回収する工程を含む、請求項5に記載の蛋白質またはペプチドの製造方法。
- 7. 請求項5に記載の蛋白質に結合するリガンドのスクリーニング方法であって、
- (a)請求項5に記載の蛋白質またはペプチドに被検試料を接触させる工程、

- (b) 該蛋白質またはペプチドに結合する化合物を選択する工程、を含む方法。
- 8. 請求項5に記載の蛋白質とそのリガンドとの結合を阻害する活性を有する化合物のスクリーニング方法であって、
- (a)被検試料の存在下で請求項5に記載の蛋白質またはその部分ペプチドにリガンドを接触させ、該蛋白質またはその部分ペプチドとリガンドとの結合活性を検出する工程、
- (b)被検試料非存在下での結合活性と比較して、工程 (a)で検出された結合 活性を低下させる化合物を選択する工程、を含む方法。
- 9. 請求項5に記載の蛋白質の活性を阻害または促進する化合物をスクリーニングする方法であって、
- (a)被検試料の存在下で該蛋白質を発現する細胞に該蛋白質のリガンドを接触 させる工程、
- (b) 該リガンドの該蛋白質への結合による細胞における変化を検出する工程、
- (c)被検試料非存在下での細胞における変化と比較して、工程(b)で検出された細胞における変化を抑制または増強させる化合物を選択する工程、を含む方法。
- 10. 細胞における変化が、cAMP 濃度の変化またはカルシウム濃度の変化である、請求項8または9に記載の方法。
- 11. 請求項5に記載の蛋白質に結合する抗体。
- 12. 請求項7から10のいずれかに記載のスクリーニングにより単離される化合物。
- 13. 請求項12に記載の化合物を有効成分とする医薬組成物。
- 14. 癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の治療のための、請求項13に記載の医薬組成物。

- 15. 配列番号:5から8、22から26のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA またはその相補鎖に相補的な、少なくとも15ヌクレオチドの鎖長を有するヌクレオチド。
- 16. 癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断方法であって、被検者由来の該疾患に関連した組織における請求項1に記載のDNAの発現、または被検者における請求項1に記載のDNAの変異追加しましたを検出することを含む方法。
- 17.請求項11に記載の抗体または請求項15に記載のヌクレオチドを含む、 癌、肝硬変、およびアルツハイマー病からなる群より選択される疾患の診断薬。

Sbict:

1/34

図 1

```
>sp|P47901|V1BR_HUMAN VASOPRESSIN V1B RECEPTOR (AVPR V1B) (VASOPRESSIN V3
           RECEPTOR) (AVPR V3) (ANTIDIURETIC HORMONE RECEPTOR 1B).
           Length = 424
 Score = 316 (111.2 bits), Expect = 3.7e-41, Sum P(2) = 3.7e-41
 Identities = 70/194 (36%), Positives = 115/194 (59%)
         56 LWVLFVFTIVGNSVVLFSTWRR-KKKSRMTFFVTQLAITDSFTGLVNILTDINWRFTGDF 114
Query:
            L + V GN VL + + +K+SRM FV LA+TD L +L + W T F
         41 LATVLVLATGGNLAVLLTLGQLGRKRSRMHLFVLHLALTDLAVALFQVLPQLLWDITYRF 100
Sbict:
        115 TAPDLVCRVVRYLQVVLLYASTYVLVSLSIDRYHAIVYPMKFLQGEKQARVLIVIA-WSL 173
Query:
              PDL+CR V+YLQV+ ++ASTY+L+++++DRY A+ +P++ LQ Q+ L++ A W L
        101 QGPDLLCRAVKYLQVLSMFASTYMLLAMTLDRYLAVCHPLRSLQQPGQSTYLLIAAPWLL 160
Sbjct:
        174 SFLFSIPTLIIFGKRTL--SNGEVQCWALWPDDSY-WTP--YMTIVAFLVYFIPLTIISI 228
Query:
             + +FS+P + IF R + +G + CWA D + W P Y+T
                                                          ++ +P+T+++
        161 AAIFSLPQVFIFSLREVIQGSGVLDCWA---DFGFPWGPRAYLTWTTLAIFVLPVTMLTA 217
Sbjct:
        229 MYGIVIRTIW--IKSKT 243
Query:
             Y ++ I +K KT
Sbjct:
        218 CYSLICHEICKNLKVKT 234
 Score = 131 (46.1 bits), Expect = 3.7e-41, Sum P(2) = 3.7e-41
 Identities = 33/80 (41%), Positives = 47/80 (58%)
         258 SSYNRGLISKAKIKAIKYSIIIILAFICCWSPYF---LFDILDNFNLLPDTQERFYASVI 314
Query:
                  IS+AKI+ +K + +I+LA+I CW+P+F ++ + D N PD
        267 SSINT--ISRAKIRTVKMTFVIVLAYIACWAPFFSVQMWSVWDK-NA-PDEDSTNVAFTI 322
Sbjct:
        315 IQNLPALNSAINPLIYCVFSSSI 337
Query:
```

L LNS NP IY F+S + 323 SMLLGNLNSCCNPWIYMGFNSHL 345

```
>sp|P31388|5H6_RAT 5-HYDROXYTRYPTAMINE 6 RECEPTOR (5-HT-6) (SEROTONIN RECEPTOR)
           (ST-B17).
           Length = 436
Score = 224 (78.9 bits), Expect = 6.7e-17, P = 6.7e-17
Identities = 84/309 (27%), Positives = 144/309 (46%)
          3 PGEA--LLAGLLYMVLAVALLSNALVLLCCAYSAELRTRASGVLLVNLSLGHLLLAALDM 60
Query:
            PG + + A L V+++ A ++ L++L C A LR S LV+L L++ + M
         23 PGGSGWVAAALCVVIVLTAAANSLLIVLICTQPA-LRN-TSNFFLVSLFTSDLMVGLVVM 80
Sbjct:
         61 PFTLLGVMRGRTPSAPGACQVIGFLDTFLASNAALSVAALSADQWLAVGFPLRYAGRLR- 119
Query:
            P +L + GR A G C + D S + L++ +S D++L + PLRY R+
         81 PPAMLNALYGRWYLARGLCLLWTAFDYMCCSASILNLCLISLDRYLLILSPLRYKLRMTA 140
Sbjct:
        120 PRYAGLLLGCAWGQSLAFSGAALGCSWLGYSSAFASCSLRLPPEPERPRFAA---FTATL 176
Query:
                                                    PP+RAF
            PR L+LG AW SLA AL S+L
                                         +
        141 PRALALILG-AW--SLA----ALA-SFLPLLLGWHELGKARTPAPGQCRLLASLPFVLVA 192
Sbjct:
        177 HAVGFVLPLAVLCLTSLQVHRVARRHCQRMDTVT------MKALALLADLHPSVR---- 225
Query:
              V F LP +C T ++ AR+ ++ ++T
                                                  ++ L +
        193 SGVTFFLPSGAICFTYCRILLAARKQAVQVASLTTGTAGQALETLQVPRTPRPGMESADS 252
Sbjct:
        226 QRCLIQQKRRRHRATRKIGIAIATFLICFAPYVMTRLAELVPFVTVNAQWGILSKCLTYS 285
Query:
            +R + R+ +A+ +GI + F + + P+ + +A+ V + +L+ L Y
        253 RRLATKHSRKALKASLTLGILLGMFFVTWLPFFVANIAQAVCDCISPGLFDVLT-WLGYC 311
Sbjct:
        286 KAVADPFTYSLLRRPFRQVL 305
Query:
             + +P Y L R F++ L
        312 NSTMNPIIYPLFMRDFKRAL 331
Sbjct:
```

```
>sp|P56479|GALR_MOUSE GALANIN RECEPTOR TYPE 1 (GAL1-R) (GALR1).
           Length = 348
Score = 269 (94.7 \text{ bits}), Expect = 7.9e-24, P = 7.9e-24
Identities = 82/289 (28%), Positives = 136/289 (47%)
         49 VGFVGNLCVIGILLHNAWKGKP-SMIHSLILNLSLADLSLLLFSAPIRATAYSKSVWDLG 107
Query:
            +G +GN VI +L + GKPS + ILNLS+ADL+ LLF P +AT Y+ W LG
         46 MGVLGNSLVITVLARSK-PGKPRSTTNLFILNLSIADLAYLLFCIPFQATVYALPTWVLG 104
Sbjct:
        108 WFVCKSSDWFIHTCMAAKSLTIVVVA--KVCFMYASDPAKQVSIHNYTIWSVLVAIWTVA 165
Query:
             F+CK +F M T+ ++ + S + ++ + V IW ++
        105 AFICKFIHYFFTVSMLVSIFTLAAMSVDRYVAIVHSRRSSSLRVSRNALLGVGF-IWALS 163
Sbjct:
        166 SLLPLPEWFFSTIRHHEGVE-MCLVDVPAVAEEFMSMFGKLYPL--LAFG--LPLFFASF 220
Query:
                                            + KY+ FG LPL F
              + P + + H + + C P
        164 IAMASPVAYHQRLFHRDSNQTFCWEQWPN-----KLHKKAYVVCTFVFGYLLPLLLICF 217
Sbjct:
        221 YFWRAYDQCKKRGTKTQNLRNQIRSKQVTVMLLSIAIISAVLWLPEWVAWLWVWHLKAAG 280
Query:
             + + + K+ K + +++ K+ +L + ++ + WLP V LW
        218 CYAKVLNHLHKK-LKNMSKKSEASKKKTAQTVLVVVVVFGISWLPHHVVHLWAEF--GAF 274
Sbjct:
        281 PAPPQGFI--ALSQVLMFSISSANPLIFLVMSEEFREGLKGVWKWMITKKPPTVSESQE 337
Query:
            P P F + L +S SS NP+I+ +SE FR+ K V+K + + P SE++E
        275 PLTPASFFFRITAHCLAYSNSSVNPIIYAFLSENFRKAYKQVFKCHVCDESPR-SETKE 332
Sbjct:
```

```
>sp:NY2R BOVIN NEUROPEPTIDE Y RECEPTOR TYPE 2 (NPY2-R).
          Length = 384
Score = 153 bits (383), Expect = 5e-37
Identities = 93/308 (30%), Positives = 164/308 (53%), Gaps = 7/308 (2%)
Query: 47 DEDEDVTNSRTFFAAKIVIGMALVGIMLVCGIGNFIFIAALVRYKKLRNLTNLLIANLAI 106
                       ++V+ +A I+L+ IGN + I ++++K +R +TN IANLA+
          D + ++ +S
Sbjct: 38 DSEPELIDSTKLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLVIHVVIKFKSMRTVTNFFIANLAV 97
Query: 107 SDFLVAIVCCPFEMDYYVVRQLSWEHGHVLCTSVNYLRTVSLYVSTNALLAIAIDRYLAI 166
          +D LV +C PF + Y ++ + W+ G VLC V Y + +++ VST L IA+DR+ I
Sbjct: 98 ADLLVNTLCLPFTLTYTLMGE--WKMGPVLCHLVPYAQGLAVQVSTITLTVIALDRHRCI 155
Query: 167 VHPLRPRMKCQTATGLIALVWTVSILIAIPSAYFTTETVLVIVKSQEKIFCGQIWPVDQQ 226
          V+ L ++ Q + +I L W VS L+A P A F +++ I+ E + C + WP +++
Sbjct: 156 VYHLESKISKQISFLIIGLAWGVSALLASPLAIFREYSLIEIIPDFEIVACTEKWPGEEK 215
Query: 227 -LYYKSYFLFIFGIEFVGPVVTMTLCYARISRELWFKAVPGFQTEQIRKRLRCRRKTVLV 285
           +Y Y L I +V P+ ++ Y RI +L PG + +R
Sbjct: 216 GIYGTIYSLSSLLILYVLPLGIISFSYTRIWSKLKNHVSPGAAHDHYHQR---RQKTTKM 272
Query: 286 LMCILTAYVLCWAPFYGFTIVRDFFPTVFVKEKHYLTAFYIVECIAMSNSMINTLCFVTV 345
          L+C++ + + W P + F + D V + K Y F + IAM ++ N L + +
Sbjct: 273 LVCVVVVFAVSWLPLHAFQLAVDIDSHV-LDLKEYKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWM 331
Query: 346 KNDTVKYF 353
           ++ K F
Sbjct: 332 NSNYRKAF 339
```

```
>sp|P97926|OXYR_MOUSE OXYTOCIN RECEPTOR (OT-R).
           Length = 388
 Score = 164 (57.7 bits), Expect = 8.9e-22, Sum P(2) = 8.9e-22
 Identities = 57/166 (34%), Positives = 84/166 (50%)
          24 WGLNLTLGQGAP-----ASGPPSR-----RVRLVFLGVILVVAVAGNTTVLCRLCGGG 71
Query:
                                          RV + L +IL +A++GN VL L
                              +GPP R
            W + L LG G P
          9 WSIELDLGSGVPPGAEGNLTAGPPRRNEALARVEVAVLCLILFLALSGNACVLLAL---- 64
Sbjct:
          72 GPWAGPKRKMDFLLVQLALADLYACGGTALSQLAWELLGEPRAATGDLACRFLQLLQAS 131
Query:
                  K ++ F + L++ADL L QL W++ R DL CR ++ LQ
          65 -RTTRHKHSRLFFFMKHLSIADLVVAVFQVLPQLLWDITF--RFYGPDLLCRLVKYLQVV 121
Sbjct:
         132 GRGASAHLVVLIALERRRAVRLPHGRPLPARA--LAALG-WLLALLLALPPAFV 182
Query:
             G AS +L++L++L+R A+ P. R L R LA L WL L+ ++P +
         122 GMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPL-RSLRRRTDRLAVLATWLGCLVASVPQVHI 174
Sbict:
 Score = 155 (54.6 bits), Expect = 8.9e-22, Sum P(2) = 8.9e-22
 Identities = 49/161 (30%), Positives = 85/161 (52%)
         217 CHGIFAPLPRWHLQVYAFYEAVAGFVAPVTVLGVACGHLLS--VWW--RHRPQAPAAAAP 272
             C +F + W + Y + +A ++ PV VL AC L+S +W R + A AAAA
 Query:
         187 CWAVF--IQPWGPKAYVTWITLAVYIVPVIVLA-ACYGLISFKIWQNLRLKTAAAAAAAA 243
 Sbjct:
         273 WSASPG-----RAPAPSALPRAKVQSLKMSLLLALLFVGCELPYFAARLAAAWS-SG 323
 Query:
                           R + + + + AK++++KM+ ++ L F+ C P+F ++ + W +
          244 GSDAAGGAGRAALARVSSVKLISKAKIRTVKMTFIIVLAFIVCWTPFFFVQMWSVWDVNA 303
 Sbjct:
          324 PAGDWEGEGLSAALRVVAMANSALNPFVYLFFQAGDCRLRRQLRKRLGSLCCA 376
 Query:
                                                 L +L +R LCC+
                         A+ ++A NS NP++Y+ F
                Ε
          304 PK---EASAFIIAM-LLASLNSCCNPWIYMLFTG---HLFHELVQRF--LCCS 347
 Sbjct:
```

```
>spiQ91178|GPRX ORYLA PROBABLE G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR (FRAGMENT).
           Length = 428
Score = 823 (289.7 bits), Expect = 9.8e-83, P = 9.8e-83
Identities = 182/422 (43%), Positives = 266/422 (63%)
          2 ESSPIPQSSGNSSTLGRVPQTPGPSTASGVPEVGL----RDVASESVALFFMLLLDLTAV 57
Query:
            ++SP+ S + S P P+ P+VG+ + + LF M+ L+L A+
          5 KTSPMITSDHSISNFSTGLFGPHPTVP---PDVGVVTSSQSQMKDLFGLFCMVTLNLIAL 61
Sbjct:
         58 AGNAAVMAVIAKTPALRKFVFVFHLCLVDLLAALTLMPLAMLSSSALFDHALFGEVACRL 117
Query:
              N VM IA+ P L+KF FV HLC VD+L A+ LMPL ++SSS F +F + C++
         62 LANTGVMVAIARAPHLKKFAFVCHLCAVDVLCAILLMPLGIISSSPFFGTVVFTILECQV 121
Sbjct:
        118 YLFLSVCFVSLAILSVSAINVERYYYVVHPMRYEVRMTLGLVASVLVGVWVKALAMASVP 177
Query:
             Y+FL+V + L+IL+++AI+VERY+Y+VHPMRYEV+MT+ LV V++ +W K+L +A V
        122 YIFLNVFLIWLSILTITAISVERYFYIVHPMRYEVKMTINLVIGVMLLIWFKSLLLALVT 181
Sbict:
         178 VLGRVSWEEGAPSVPPGCSLQWSHSAYCQLFVVVFAVLYFLLPLLLILVVYCSMFRVARV 237
Query:
             + G + + CSL SHS +F V+F V+ FL P+++I VY ++++VAR
         182 LFGWPPYGHQSSIAASHCSLHASHSRLRGVFAVLFCVICFLAPVVVIFSVYSAVYKVARS 241
Sbjct:
         238 AAMQHGP-LPTWME-TP-RQRSESLSSRSTMVTSSGAPQT-TPHRTFGGGKAAVVLLAVG 293
Query:
             AA+Q P +PTW + +P + RS+S++S++T++T+ PQ +P R F GGKAA+ L +
         242 AALQQVPAVPTWADASPAKDRSDSINSQTTIITTRTLPQRLSPERAFSGGKAALTLAFIV 301
Sbjct:
         294 GQFLLCWLPYFSFHLYVALSAQPISTGQVESVVTWIGYFCFTSNPFFYGCLNRQIRGELS 353
Query:
             GQFL+CWLP+F FHL ++L+ S G +E V W+ Y F NP FYG LNRQIR EL
         302 GQFLVCWLPFFIFHLQMSLTGSMKSPGDLEEAVNWLAYSSFAVNPSFYGLLNRQIRDELV 361
Sbjct:
         354 K-QFVCFFKPAPEEELRLPSREGSIEENFLQFLQGTGCPSESWVSRPLPSPKQ-EPPAVD 411
Query:
             K + C +P E+ S EGS +ENFLQF+Q T SE+ S
                                                            +P+ E A
         362 KFRRCCVTQPV---EIGPSSLEGSFQENFLQFIQRTSSSSETHPSFANSNPRNMENQA-- 416
Sbjct:
         412 FRIPGQIAEE 421
 Query:
              +IPGQI EE
         417 HKIPGQIPEE 426
Sbict:
```

```
>SP|P23749|RTA_RAT_PROBABLE G_PROTEIN-COUPLED_RECEPTOR_RTA.
           Length = 343
 Score = 461 (162.3 bits), Expect = 2.3e-44, P = 2.3e-44
 Identities = 121/323 (37%), Positives = 178/323 (55%)
           2 NQTLNSSGTVESALNYSRGS-TVHT-AYL----VLSSLAMFTCLCGMAGNSMVIWLLGFR 55
Query:
                   G E+ YSRG T+ A L V + + + CLCG+ GN +V+W GF
         13 NQNKMCPGMSEALELYSRGFLTIEQIATLPPPAVTNYIFLLLCLCGLVGNGLVLWFFGFS 72
Sbjct:
          56 MHRNPFCIYILNLAAADLLFLFSMASTLSLETQPLVNT-TDKVHELMKRLMYFAYTVGLS 114
Query:
             + R PF IY L+LA+AD ++LFS A L ++ D V +++
                                                               + G+S
          73 IKRTPFSIYFLHLASADGIYLFSKAVIALLNMGTFLGSFPDYVRRVSRIVGLCTFFAGVS 132
Sbjct:
         115 LLTAISTQRCLSVLFPIWFKCHRPRHLSAWVCGLLWTLCLLMNGLTSSFCSKFL--KFNE 172
Query:
            LL AIS +RC+SV+FP+W+ RP+ LSA VC LLW L L+ + + FC FL + +
         133 LLPAISIERCVSVIFPMWYWRRRPKRLSAGVCALLWLLSFLVTSIHNYFCM-FLGHEASG 191
Sbict:
         173 DRCFRVDMVQAALIMGVLTPVMTLSSLTLFVWVRRSSQQWRRQPTRLFVVVLASVLVFLI 232
Query:
               C +D+ L+ + P+M L L L + V +++ R++ +L VVLA V VFL+
         192 TACLNMDISLGILLFFLFCPLMVLPCLALILHVECRARR-RQRSAKLNHVVLAIVSVFLV 250
Sbjct:
         233 CSLPLSIYWFVLYWL-SLPPEMQVLCFSLSRLSSSVSSSANPVIYFLVGSRRSHRLPTRS 291
Query:
              S+ L I WF L+W+ +P ++ L ++SSA P++YFL G +S RL
         251 SSIYLGIDWF-LFWVFQIPAPFPEY---VTDLCICINSSAKPIVYFLAGRDKSQRL-WEP 305
Sbjct:
         292 LGTVLQQALRE--EPELEGGETPTVGTNEM 319
Query:
             L V Q+ALR+ EP TP T EM
         306 LRVVFQRALRDGAEPGDAASSTPNTVTMEM 335
Sbjct:
```

図8

>sp|Q98907|P2Y3_CHICK P2Y PURINOCEPTOR 3 (P2Y3) (NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE RECEPTOR). Length = 328Score = 452 (159.1 bits), Expect = 2.0e-43, P = 2.0e-43 Identities = 85/185 (45%), Positives = 116/185 (62%) 15 CQFSEKYKQVYLSLAYSIIFILGLPLNGTVLWHFWGQTKRWSCATTYLVNLMVADLLYVL 74 C F E++KQV L L YS++F+LGLPLN V+ W K + T Y++NL +ADLLYV Query: 13 CTFHEEFKQVLLPLVYSVVFLLGLPLNAVVIGQIWLARKALTRTTIYMLNLAMADLLYVC 72 Sbjct: 75 -LPFLIITYSLDDRWPFGELLCKLVHFLFYINLYGSILLLTCISVHQFLGVCHPLCSLPY 133 LP LI Y+ D WPFG+ CK V F FY NL+GSIL LTCISV +++G+CHPL S Query: 73 SLPLLIYNYTQKDYWPFGDFTCKFVRFQFYTNLHGSILFLTCISVQRYMGICHPLASWHK 132 Sbjct: 134 RT-RRHAWLGTSTTWALVVLQLLPTLAFSHTDYINGQMIWYDMTSQENFDRLFAYGIVLT 192 + ++ WL + W +V+ Q LPT F+ T + + YD++ + Query: 133 KKGKKLTWLVCAAVWFIVIAQCLPTFVFASTGTQRNRTVCYDLSPPDRSTSYFPYGITLT 192 Sbict: 193 LSGFL 197 Query: ++GFL

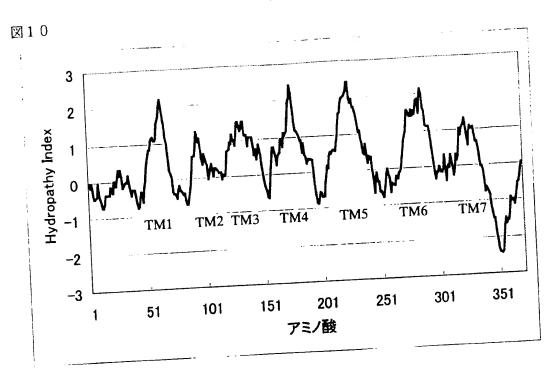
193 ITGFL 197

Sbjct:

Sbjct:

```
図9
  >sp|002824|A1AA_RABIT_ALPHA-1A_ADRENERGIC_RECEPTOR_(ALPHA_1A-ADRENOCEPTOR)
              (ALPHA-1C ADRENERGIC RECEPTOR).
              Length = 466
   Score = 295 (103.8 bits), Expect = 1.0e-31, Sum P(2) = 1.0e-31
   Identities = 66/215 (30%), Positives = 113/215 (52%)
             8 STRESNSSHTCMPLSKMPISLAHGIIRSTVLVIFLAASFVGNIVLALVLQRKPQLLQVTN 67
               S S+SS+ P + P++++ I+ +L + +GNI++ L +
              5 SGNASDSSNCTHPPA--PVNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILVILSVACHRHLHSVTH 62
   Query:
             68 RFIFNLLVTDLLQISLVAPWVVATSVPLFWPLNSHFCTALVSLTHLFAFASVNTIVVVSV 127
   Sbict:
                 +I NL V DLL S V P+ + +W FC ++ L AS+ ++ V+S+
             63 YYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEILGYWAFGRVFCNIWAAVDVLCCTASIISLCVISI 122
    Query:
            128 DRYLSIIHPLSYPSKMTQRRGYLLLYGTWIVAILQSTPPLYGWGQAAFDERNALCSMIWG 187
    Sbjct:
                DRY+ + +PL YP+ +TQRRG L W +++ S PL+GW Q A D+ +C +
             123 DRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLRALLCVWAFSLVISVGPLFGWRQPAPDDET-ICQI--N 179
    Query:
    Sbjct:
             188 ASPSYTILSVVSFIVIPLIVMIACYSVVFCAARRQ 222
                   PY+S+ +PL +++AY V+ A+R+
    Query:
             180 EEPGYVLFSALGSFYVPLTIILAMYCRVYVVAKRE 214
     Sbict:
      Score = 106 (37.3 \text{ bits}), Expect = 1.0e-31, Sum P(2) = 1.0e-31
      Identities = 23/75 (30%), Positives = 41/75 (54%)
              396 KAAKVIFIIIFSYVLSLGPYCFLAVLAVWVDVETQVPQWVITIIIWLFFLQCCIHPYVYG 455
                  KAAK + I++ +VL P+ + + + + + P+ V I+ WL +L CI+P +Y
              269 KAAKTLGIVVGCFVLCWLPFFLVMPIGSFFP-DFKPPETVFKIVFWLGYLNSCINPIIYP 327
     Query:
      Sbict:
              456 YMHKTIKKEIQDMLK 470
      Query:
                     + KK Q++LK
              328 CSSQEFKKAFQNVLK 342
```

10/34



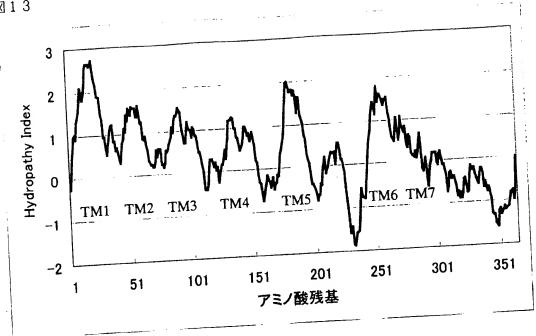
1 1	*******
	ADDROUGH ADVEVAVI CLIL
	MEGALAANWSA-EAA-NASAAPPGAEGNRTAGPPRRNEALARVEVAVLCLIL
X64878	MEGALAANWSA-EAA-NASAAPPGAEGNKTAGFFRREEZAKVEVAVLCLIL MEGELAANWST-EAV-NSSAAPPGAEGNCTAGPPRRNEALARVEVAVLCLIL MEGELAANWST-EAV-NSSAMVNSSMENQNHSSNSTRDPLKRNEEVAKVEVTVLALIL
U82440	MEGELAANWST-EAR WOSSMENONHSSNSTROPLKRNEEVARVEVIVI ALVI
X93313	MEGALAAN MEGELAANWST-EAV-NSSAAPPGAEGNCTAGPPRRHEALARVEVTVLALIL MEGELCLNLDCS-ELP-NSSWVNSSMENQNHSSNSTRDPLKRNEEVAKVEVTVLALVL MEGLCLNLDCS-ELP-NSSWVNSSMENQNHSSNSTRDPLKRNEEVAKVEVTVLALVL
X87783	
AF184966	
X76321	MKNFSFPMQD-STHQTESPPHRLLSLTNKSDPVGRPERDEQLAQVEIAVLGVIF
AF147743	INTICCEDMON-2/10A/COLLINGER
	WD VNEILE (2) 1720 106 1 CD 20 1
GPRV8	
AE003754	
	####### TM2 #######
	TM1 ####################################
X64878	
U82440	- ALACHICVIII II TINKINISMOTT MOTO
X93313	
X87783	
AF184966	CHANLENI COLLAMMININO SUMITE TO A MARCONI DOLLAMILI DE LUI DI
X76321	TACUCMETT IT AT MKKKUVENUM, AT WELL THE TOTAL THE THE TOTAL TOTAL THE TOTAL
AF147743	UCTIVONOVIENIEK TRANSSES STATES STATES AND LINK TRILLER LILISERAUSE
GPRV8	THE CHEAVE FUNE INKNEKSEMNYF I KQLALADLCYGLLTALIA
AE003754	TVIVLGNSAVLFVMFINKNRKSRMNYFIKQLALADLCVGLLNVLII + : + : : : : : : : : : : : : : : : :
	AAAAAAAAA TMA \$
	@########### TM3 ########### LCRLVKYLQVVGMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPLRSLRRRTDRLAVLATWLGCLVAS
	ONLY ON CHEASTYLLLIMSLDRCLAICQPLRSLRRKI - DRLAVLATHI GCLVAS
X64878	LCRLVKYLQVVGMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPLRSLRRRTDRLAVLATWLGCLVAS LCRLVKYLQVVGMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPLRSLHRRSDCVVYVLFTWILSFLLS
U82440	LCRLVKYLQVVGMFASTYLLLLMSLDRCLAICQPLRSLRRKIDRCVYVLFTWILSFLLS UCRLVTYLQVVGMFASTYMLLLMSLDRCLAICQPLRSLHRRSDRCYVVLFTWILSFLLS UCRLVTYLQVVGMFASTYMLLLMSLDRCIAICQPLRSLHKRKDRCYVVSWALSLYFS
X93313	VCRLVTYLQVVGMFASTYMLULMSLDRCLAICQPLRSLHRRS-DCVVIVSWALSLYFS VCRLVTYLQVVGMFASTYMLVLMSIDRCIAICQPLRSLHKRK-DRCYVIVSWALSLYFS LCRLVKYLQTVGMFASTYMLVLMSIDRCIAICQPLRSLHKRK-DRCYVINIVSTWMCSLVFS
X87783	UCKLYYLQTVGMFASTYMLVLMSIDRCIAICQPLRSLHKKK-DKCIMIVSTWMCSLVFS LCRLVKYLQTVGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKTLQQPTQRSYIMIVSTWMCSLVFS LCRIVKHLQVIGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKTLQQPTQRAYIMIGSTWLCSLLLS
AF184966	LCRIVKHLQVTGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKTLQQPTQRAYIMIGSTWLCSLLLS LCRIVKHLQVLGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKTLQQPTQRAYIMIGSTWLCSLLLS LCRIVKHLQVLGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKTLQQPTQRAYIMIGSTWLCSLLLS
x76321	LCRIVKHLQVLGMFASTYMMVMMTLDRYIAICHPLKILQQPIQRATIONIPICTSWSISLILS LCRIVKHLQVLGMFASTYMIVVMTVDRYQAVCYPMVTFQKKRALWNIPICTSWSISLILS LCRIIKYLQLLGMFASTYMIVVMTVDRYQAVCYPMVFLQGEKQ-ARVLIVIAWSLSFLFS
AF147743	· ANTINALULISMENULISMITAMILALULISMI POUCAU TONI LAIMENULISMI
GPRV8	VCRVVRYLQVVLLTASTTVLVAMS IDRYDAITHPMNFSKSWKR-ARHLVAGAWLTSALT
AE003754	ACKAIRESQUEVITSSITULANIII + + +: +:
VERROLL	
	######### TM5 ##########################
W0.4079	APQVHIFSLREVADGVFDCWAYFIQF-WCPKAYITWITLAVYIVPVIVLAACYGLI
X64878	ANAMATECI DEVANGE TELEVANOTOR TO THE STATE AND LIDER STATE OF THE STAT
U82440	
X93313	CONTAINED DE L'ARGEST AUTONOMISSES SELECTIONS SELECTION
X87783	
AF184966	TOURISE SETUNGATAINGMAIL IS TO THE TOURISE TO THE TOURISMAN
X76321	* PUNCTECK IET ZDITTELITATET TA TET TA TE TA TET TA TE TA TET TA
AF147743	IDTI LIEGKRILSNG-EVQCWALWPDDSYWIP-TWITTAN EN FALPALLISACYAL
GPRv8	IPTLIIFGKRTLSNGEVQCWALWPDDSYWTPYMITVAFLYTTELIISACYAI LPILVLYEEKLIQGHPQCWIELGSPIAWQVYMSLVSATLFAIPALIISACYAI
AE003754	* :: : : : : : : : : : : : : : : : : :

	\$\$\$\$\$\$\$ TM6
	TOTAL LOVA VIDEN LA
	FKIWQNLRLKTAAAAAAEAPEGAAAGDGGRVALARVSSVKLISKAKIRTVKNTFIIVLAF
X64878	FKIWQNLRLKTAAAAAAEAPEGAAAGDGGRVALARVSSVKLISKAKIRTVKMTFIIVLAF FKIWQNLRLKTAAAAAAEAPEGAAAGDGGRMALARVSSVKLISKAKIRTVKMTFIIVLAY
U82440	FKIWQNLRLKTAAAAAAEAPEGAAAGDUGKMALARVSSVRLISKAKIRTVKMTFIIVLAY YKIWQNIRLKTVCESNLRLSTSRRATLSRVSSVRLISKAKIRTVKMTFIIVLAY
X93313	YKIWQNIRLKTYCESNLRLSTSKANLLSRVSSYKLYSKAKITTYKMTFYIYLAY FKIWQNFKRKTKKDQCITLTTAASKANALARVSSYKLYSKAKITTYKMTFYIYLAY
X87783	FKIWQNFKRKTKKDQCITLTTAASKANALARVSSVTLISRAKLRTVKNTFVIVLAY HTIWKNIKYKKRKTIPGAASKNGLIGKNSVSSVTLISRAKLRTVKNTLVIVLAY
AF184966	HTIWKNIKYKKRKTIPGAASKNGLIGKNSVSSYTIISKAKERTVKNTLVIVLAY HSIWKNIKCKTMRGTRNTKDGMIGKVSVSSYTIISRAKLRTVKNTLVIVLAY
X76321	HSIWKNIKCKTHRGTRNTKUGNIGKASASSATTISKALIKTAKNTIVTVAAY KIIKRNIYVKKQNEYQVTNQKUCSSYNRGLISKAKIKAIKYSIIIILAF
AF147743	KI IKRNIYYKKQNETQYINQ- RAYURGU ISKAKIKAIKYSIIIILAF
GPRv8	KIIKRNIYYKKQNEYQYTNQKQVLPSRASSVNCISKAKIKAIKYSIIIILAF RTIWIKSKTYETVISNCSDGKLCSSYNRGLISKAKIKAIKYSIIIILAF RTIWIKSKTYETVISNCSCA
AE003754	RTIWIKSKTYETVISNCSDG
VERROLDA	* :

X64878	IVCWTPFFFVQMWSVWDANAPKEASAFIIVMLLASLNSCCHPWIYMLFTGHLFHELVIVCWTPFFFVQMWSVWDANAPKEASAFIIVMLLASLNSCCNPWIYMLFTGHLFHELVICWTPFFFVQMWSVWDANAPKEASAFIIVMLLASLNSCCNPWIYMLFTGHLFHDLL
U82440	VCWTPFFFVQHWSVWDANAPREASAFT AND LOSI NSCONPW LYML FTGHLFHDLL
_	I VCWTPFFFVQMWSVWDPNPPKEASLF I I AMLLUSLASCONT W I YMFFAGHI FHDLK
X93313	IVCWTPFFFVQMWSVWDPNPPKEASLFTTAMLLUSLUSCUSUM IYMFFAGHLFHDLK IVCWTPFFFVQMWSAWDPEAPREAMPFIISMLLASLUSCUSUM IYMFFAGHLFHDLK IICWAPFFTVQMWSYWDENFQYADSENTAVTISALLASLUSCUSUM IYMLFSGHLLQDFM
X87783	LICHAPEET VOMES VEDENFQYADSENTAVTISALLASLINGCORPET MIT SCHLLEVON
AF184966	IICWAPFFTVQMWSYWDENFQYADSENIAVITSALLASLASCATWIYMLFSGHLLYDFL IVCWAPFFIVQMWSYWDENFSWDDSENAAVTLSALLASLASCAPWIYMYFCGHIPY
X76321	IVCWAPFFIVQNWSVWDENFSWDDSENAAVILSALLASLASCATUTIVIYMYFCGHIPY VLCWSPFFIAQLWSVWFPSGITEGSAFTIIMLLGNLNSCTNPWIYMYFCGHIPY VLCWSPFFIAQLWSVWFPSGITEGSAFTIIMLLGNLNSCTNPWIYMYFCGHIPY
AF147743	VLCWSPFFIAQLWSVWFPSGITEGSAFITIMELGAENSSINPLIYCVFSSSISFP ICCWSPYFLFDILDNFNLLPDT-QERFYASVIIQNLPALNSAINPLIYCVFSSSISFP
GPRv8	
AE003754	IICWSPYIIFDLLQVFGQIPHS-QIMININI
	: ** : * :: :: : : : : : : : : : : : : : : : :
	QRFLCCSASYLKGRRLGETSASKKSNSSSFVLSHRSSSQRSCSQPS
X64878	QRFLCCSASYLKGRRLGETSASKKSNSSSFVLSHRSSSQRSCSQPS QRFLCCSASYLKGNRLGETSTSKKSNSSTFVLSRKSSSQKSITQPS
U82440	QRSSTEVLSRKSSSQKSTTQPS
X93313	QRFLCCSASYLKGNRLGETSTSKKSNSSTYLSHRSSSQKSITQPS QSFLCCSARYLKTQQQGS-DLSASRKSNSSTYLSRKSSSQKSITQPS QSLLCCSTLYLKSSQCRCDQEHDSRKSNLTKMTN-RSPTGSTGNWRD
X87783	OSILCCSILTERSSECROSCIONATI
AF184966	NCFAWCRRANADFKKEDSDSSIRRITLLTKLAAGRMTNDGFGSWRURCFPCCKKPRNMLQKEDSDSSIRRNTIHLYD-RDPEENSTCA
X76321	RCFPCCKKPKHMLQKED SDOWNTOS
AF147743	CTNKQLENISAQEDSVVIGS
	CTNKQLENTSAQEDSVVIGSHEMQILSKP-EFCREQRSQDSRMTFRERTERHEMQILSKP-EF
GPRV8 AE003754	REPPEKMETCCCKSYRNNSQQNRCHTVGRRLHNSCDSMRTLTTSLTVSRRSTNKTNARV
VE002124	*
X64878	TA
U82440	A
X93313	A
X87783	7010MC
AF184966	TTS QME
X76321	PCNSRKSSQS IGLDCFCK33QCLLIDOGIIII
AF147743	**************************************
GPRv8	
AE003754	CERPTKYVTYPAMSERRGVSLKGNTD L
1,200	
X64878	
U82440	
X93313	
X87783	
AF184966	
X76321	KES
AF147743	
GPRV8	
AE003754	

13/34

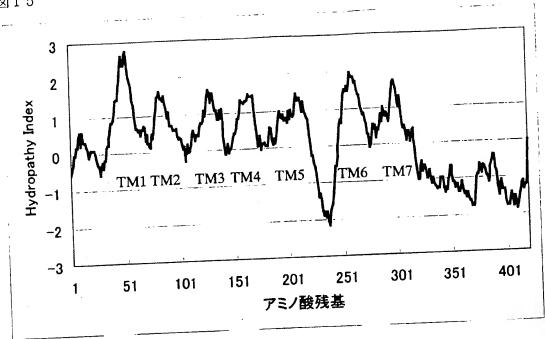




1 4	######################################
GPRv12_ORF AF208288	######################################
GPRv12_ORF AF208288	######################################
GPRv12_ORF AF208288	######################################
GPRv12_ORF AF208288	TM5 ####################################
GPRv12_ORF AF208288	######################################
GPRv12_ORF AF208288	FRQVLAGMYHRLLKRTPRPASTHDSSLDVAGMYHQLLKRTPRPASTHNGSYDTENDSCLO YRRSCKELLNRIFNRRSIHSVGLTGDSHSQNILPVSE
GPRv12_ORF AF208288	QTH

15/34



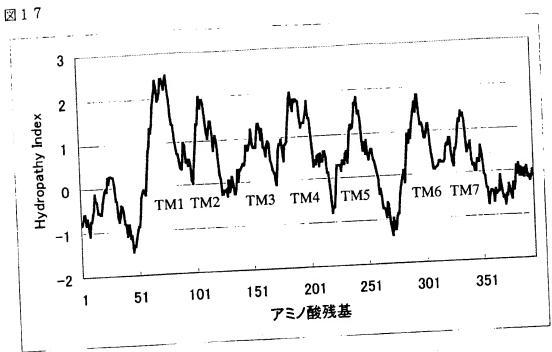


					***	****	
				****	### TM1	*****	
1	MLAAAFADSN	SSSMNVSFAH	LHFAGGYLPS	DSQDWRTIIP	ALLVAVCLVG	FVGNLCVIGI	60
	*******	******	********	*******	*******	********	1
	**	*****					
61	LLHNAWKGKP	SMIHSLILNL	SLADLSLLLF	SAPIRATAYS	KSVWDLGWFV	CKSSDWF1HT	120
	*******	****		*****	*******	********	
	esses TM3	*********		****		*****	
121	CMAAKSLTIV	VVAKVCFMYA	SDPAKQVSIH	NYTIWSVLVA	IWTVASLLPL	PEWFFSTIRH	180
	*******	** ** ****	:::::::	******	********	*******	
	A	***	#### TM5	******	****		
181	HEGVENCLVD	VPAVAEEFMS	MFGKLYPLLA	FGLPLFFASF	YFWRAYDQCK	KRGTKTQNLR	240
	*******	*******	*******	*******	*******	*******	
	222	****** T	M6 ####	****	****	#### TM7 ##	
241	NQIRSKQVTV	MLLSIATISA	VLWLPEWVAW	LWVWHLKAAG	PAPPQGFIAL	SQVLMFSISS	300

	********						000
301	ANPLIFLVMS	EEFREGLKGV	WKWMITKKPP	TVSESQETPA	GNSEGLPDKV	PSPESPASIP	360
361	EKEKPSSPSS	GKGKTEKAEI	PILPDVEQF	I HERDTVPSVQ	DNDPIPWEHE	DQETGEGVK	419

17/34





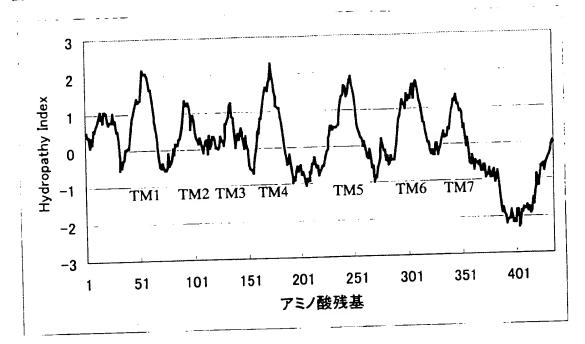
1 0	
iPRv21	METTMGFMDDNATNTSTSFLSVLNPHGAHA-TSFPFN
L121755	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
	METTYGALGENTTDTFTDFFSALDGHEAQT-GSLPFT
F236082	MGPIGAEADENQTVEEMKVEQYGP
J42766	MGPIGAEADENQTVEEMKVEQYGP
J7 6 254	MODICATADENOTVEEMKVEOVOD
J42389	MANNON CALADENOTAGENKADUCU
J50144	MANUAL MANUAL CARENT OF A PART AND A PART AND AND A PART AND AND A PART AND
086238	MKMGPLGAEADENQTVEEMKVEQTGFMKMGPLGAEADENQTVEEMKVDQFGPG
M81490	MAATWHOODHI KWEDDWADEQAETKADAYOFTAWATYCANDDEGOULGIGOTT JEGGEA
AF037444	MSMANSENSTSLFGIKRHADVTGPHSASHDVIDPSNTSVYYDHASNYESVLSTTSTLM
	********** TM1
	FOVERVENUE
GPRv21	YGDYDLPMDEDEDMTKTRTFFAAKIVIGIALAGIMLVCGIGNFVF
AL121755	FSYGDYDMPLDEEEDVTNSRTFFAAKIVIGMALVGIMLVCGIGNFIF
AF236082	QTTPRGELVPDEEEDVINSKKLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
U42766	GIILLEGET AND THE
U76254	QTTPRGELVPDPEPELIDSTKLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
U42389	QTTPRGELVPDPEPELIDSTKLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
U50144	HTTLPGELAPDSEPELIDSTKLIEVQVVLILAYCSIILLGVIGNSLV
D86238	HTTPRGELPPDPEPELIDSTKLVEVQVILILAYCSIILLGVVGNSLV
M81490	FETYNITYMMNESCODYDLI SEDMWSSAYFKIIVYMLYIPIFIFALIGNGIA
AF037444	INITEL VIDENASEPOPESNGSDIDGGHAAISEQPMYAKVIIVLMYVLIILVAVGGNLLF
M 001 444	* : :::::: *::. *::. **:

GPRv21	IAAI VPYKKI RNI TNI I IANI AISDFLYAI VCCPFEMDYYVVRQLSWEHGHVLCTSVNYL
AL121755	TAALTDYKKI RNI TNI LLANI ALSDELVALICCPEEMDYYVVRQLSWEHGHVLGASVNTL
AF236082	ITALADVKKI DNI TNI I IANI A I SDFI VA I VCCPFEMDYYVVRQLSWEHGHVLCASVNYL
U42766	IUVVIKEKSMOTVTNEETANI AVADIT VNTLCLPETLTYTLMGEWKNGPVLCHLVPYA
-	INVVIKEROMPTYTNEE IAMI AVADI I VNTLCLPETLTYTLMGEWKMGPVLCHLVPYA
U76254	ILIUVIKEKOMPTYTNEE IANI AVADI I VNTLCLPETLTYTLMGEWKNGPVLCHLYPYA
U42389	HVVIKEKSMETVTNEFIANLAVADLLVNTLCLPETLTYTLMGEWKMGPVLCHLVPYA
U50144	HYVIKEKSMETYTNEFIANLAVADLLVNTLCLPETLTYTLMGEWKMGPVLCHLVPYA
D86238	CYIVYSTPRMRTVTNYFIASLAIGDILMSFFCEPSSFISLFILN-YWPFGLALCHFVNYS
M81490	SYVIVMYPKMRSYTNLFLLNLAISDIVKAVICNPFAFIANLILL-YWPYGEFMCQVVTYI
AF037444	
	[
	## TM3 #################################
GPRv21	PTVSI VVSTNALI ALAIDRYLA I VHPLRPRMKCQTATGLI ALVWTVSI LI ALPSAYFTTE
	RTVSLYVSTNALLAIAIDRYLAIVHPLKPRMNYQTASFLIALVWMVSILIAIPSAYFATE
AL121755	RTVSLYVSTNALLAIAIDRYLAIVHPLRPRMKCQTAAGLIFLVWSVSILIAIPAAYFTTE
AF236082	QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLAWGISALLASPLAIFREY
U42766	QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLAWGISALLASPLAIFREY
U76254	QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLGWRISALLASPLAIFREY
U42389	QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKQISFLIIGLAWGVSALLASPLAIFREY
U50144	GCFVAGAZIIIFIAIVEDKUKCIAIUFESVISVAISLFIIGTVAGAZVETVALTVAL
D86238	QGLAVQVSTITLTVIALDRHRCIVYHLESKISKRISFLIIGLAWGISALLASPLAIFREY QAVSVLVSAYTLVAISIDRYIAIMWPLKPRITKRYATFIIAGVWFIALATALPIPIVSGL
	ALVOVI VCAVTI VAICINDVIAIMEDI KDVI IKVVAIDE I AGVEDIALAI ALALTITI VAIC
M81490	MAAAALAWII LANI SIDRII MIRMI LANI NI TANI NI TANI NI TANI TANI
M81490 AF037444	QVVAVFLSAFTLVAMSVDRYVAILKPMRPRLSKRAFAITMATIWILSLSAPLPTAITSRY

	A ******** TM5 *********
	THE STATE OF THE COLUMN TO THE STATE OF THE
GPRv21	
AL121755	TVLFTVKSQEKTFCGQTWPVDQQ-FYYRSYFLLVFGLEFVGPVVAMTLCYARVSRELW TVLVTVERQEKTFCGQTWPVDQQ-FYYRSYFLLVFGLEFVGPVVAMTLCYARVSRELW
AF236082	TVLVIVERQEKIFCGGIWFYDGG FITKSTT EEST SLLLLYYLPLGIISFSYTRIWSKLK SLIEIIPDFEIVACTEKWPGEEKSIYGTYYSLSSLLILYYLPLGIISFSYTRIWSKLK
U42766	SLIETIPDFETVACTERWPGEEKSTYGTVYSLSSLLILYYLPLGTISFSYTRIWSKLK
U76254	
U42389	
U50144	SLIETIPDFETVACTEKWPGEEKSTYGTYYSLSTLLILYYLPLGTISFSYTRIWSKLR
D86238	
M81490	TKQSNSTGLCLEHFENDHNRYIYSIVIMMLQYFVPLAVITVTNTHIGYIV
AF037444	TKQSNSTGLCLERICENDING
	THE ARREST
	######## TM6 ####### FKAVPG-FQTEQ!RKRLRCRRKTVLVLMC!LTAYVLCWAPFYGFT!VRDFFPTVFVKEKI
GPRv21	
AL121755	
AF236082	
U42766	
U76254	
U42389	ALIGNICIAN DOLTTRUI VI VVVPAVNU PI DAFULATU I DONTECCI
U50144	
D86238	
M81490	AKRPPGEAEINKDUKMAKSKRKMVKMMLIVVVIYAVCWLPVHVITLVGD-HNPDIYNQP
AF037444	
	1
	####### TM7 #########
GPRv21	YLTAFYIVECIAMSNSMINTLCFYTVKNDTVKYFKKIMLLHWKASYNGGK
AL121755	YLTAFYVVECIAMSNSMINTYCFYTVKNNTMKYFKKMMLLHWRPSQRGSK YLTAFYVVECIAMSNSMINTYCFYTVKNNTMKYFKKMMLLHWRPSQRGSK
AF236082	YLTAFYYVECIAMSNSMINTLCFYTYRNNTSKYLKRILRLQWRASPSGSH YLTAFYYVECIAMSNSMINTLCFYTYRNNTSKYLKRILR
U42766	YLIAFYYVECIAMSNSMINILLYGWMNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSE YKLIFTYFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSE YKLIFTYFYIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFR
U76254	YKLIFTYFYIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSI YKLIFTYFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSI
U42389	YKLIFTYFHIIAMCSTFANPLLYGWWNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSE YKLIFTYFHIIAMCSTFANPLLYGWWNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSE
U50144	YKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSI YKLIFTVFHIIAMCSTFANPLLYGWMNSNYRKAFLSAFRCEQRLDAIHSI
D86238	YKLIFTVFHIIAMCSIFANPLLTGWWASATRRAFLESATR LPYVWFAFHWLAMSHCCYNPIIYCYMNARFRSGFVQLWHRWPGLRRWCCLRSVGDRMN LPYVWFAFHWLAMSHCCYNPIIYCYMNARFRSGFVQLWHRWPGLROW
M81490	LPYYWFAFHWLAMSHCCYMPTTTCTMAAKT KSGI VALMING SKAKKELRQHLSMRSSI MNYVWLCAQWLAMSHSCYMPFYYFSLSATFRRNLRRMTHACRLKQKR-LRQHLSMRSSI
AF037444	## # : : : : : : : : : : : : : : : :
\	•
GPRv21	SADLDLKTIGMPATEEVDCIRLK
AL121755	SADLDLRTNGVPITEEADCIRLK
AF236082	SADLDLRIGIPAICEADCIRLR
U42766	SVTFKAKKNLEVRKNSGPNUSFTEATNV
U76254	SVTFKAKKNLEVKKNSGPNUSFTEATNV
U42389	SYTEKAKKNLEVRKNSGPNUSFIERINV
U50144	SVTFKAKKHLQVTKNNGPNDSFTETTNVSVTFKAKKHLQVTKNNGPNDSFTETTNV
D86238	SYTEKAKKHLQYTKNNGPHOSESEATNVSMTEKAKKNLEYKKNNGPTDSESEATNV
M81490	SMTFKAKKNLEVKKNNGPTDSFSEATHV
AF037444	PAMPOUTERACCAECIDERAZACSIHZZNKOVEMANIJOGEEACEVEKEKAANIMA

20/34



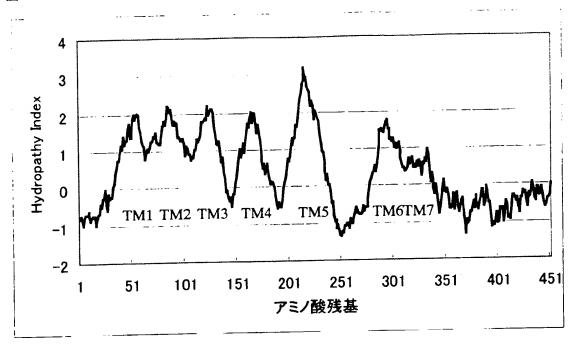


						**	1
					******	TM1 ##	
1	MEDLFSPSIL	PPAPNISVPI	LLGWGLNLTL	GQGAPASGPP	SRRVRLVFLG	VILVVAVAGN	60
		*******	********	*******	*********	********	
	1111		******		******		
61	TTVLCRLCGG	GGPWAGPKRR	KMDFLLVQLA	LADLYACGGT	ALSQLAWELL	GEPRAATGDL	120
	*******		******	*******	*******	*******	
	A :::::		*****		******	TM4 ####	
121	ACRFLQLLQA	SGRGASAHLV	VLIALERRRA	VRLPHGRPLP	ARALAALGWL	LALLLALPPA	180
	*						

	***			. •		###### TM5	
181	FVVRGDSPSP	LPPPPPPTSL	QPGAPPAARA	WPGQRRCHG1	FAPLPRWHLQ	VYAFYEAVAG	240
	*******	*******	********	*******	*******	*******	
	********					*****	
241	FVAPVTVLGV	ACGHLLSVWW	RHRPQAPAAA	APWSASPGRA	PAPSALPRAK	VQSLKMSLLL	300
	******	*******	*******	******	*******	***	
	# TM6 ####	****		******		*****	
301	ALLFVGCELP	YFAARLAAAN	SSGPAGDWEG	EGLSAALRVV	AMANSALNPF	VYLFFQAGDO	360
361	RLRRQLRKRL	GSLCCAPQG	AEDEEGPRGH	QALYRQRWPH	PHYHHARREP	LDEGGLRPPP	420
421	PRPRPLPCSC	ESAF					

22/34





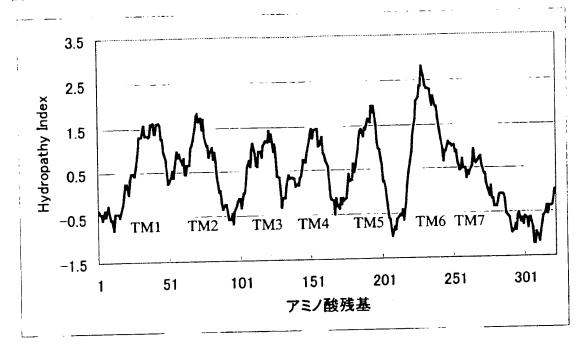
HSH2R_1		
D49783	***************************************	
M32701		
U25440		
S57565		
S73473		
M74716		2000:
U64032	MTFRDLLSYTFEGPRPDISAGGSGAGGGAGAGAGDTASSESPAYGGVPGAAGG	
L41147		
GPRv47		
D43633	e	}
D43033		***
HSH2R_1	NGTASSFCLDSTACKIT	ITV
D49783	MAPNGTASSFCLDSTACKIT	V2V
M32701	MC MC III III III III III III III III II	
U25440	MAC MCTVPNFLMUFIVINV	10.
S57565	**CO NCIANVITI NOWYEDA I	
S73473	ロックモレロト用した マーニー・ マトランリット (「ロシッグション ウル・・・・	, , ,
M74716	*** DWD!INACC VFEX!! VIII ILVOVULI 20FL 0 1 1 4	, mn-
U64032	WALLES AND ACCOCCACCCCE VNGTAAVGGL VYDAUD VU	701
	MUR FREETANCIPARGAGEFACTUSU	m * / / / /
L41147	MECCHI DOCCONCCTI CRYPGTPGPS I ASUVYE AULKUV TASI	SINC
GPRv47	MMADKTSPMITSDHSISNFSTGLFGPHPTVPPDVGVVTSSQSQMKI)LFGLF
D43633		
}	### TM1 ######## #######################	}\$\$\$\$\$\$
	THE PROPERTY OF A VICE MEDITAL THE PROPERTY AT THE LULLY LYPTON	YQLSCK
HSH2R_1		145000
D49783		(droon
M32701		, 4
U25440		idro
S57565		PUP I ALL
S73473		F112
M74716		
U64032		
L41147		
GPRv47	FMLLLDLTAVAGNAAVMAYTAKTFALKKFVFVFVFTLGGEVDVLCATLLMPLGTISS CMVTLNLTALLANTGYMVATAKAFPLKKFAFVCHLCAVDVLCATLLMPLGTISS	SPFFGT
D43633	CHY I CHE I ALL STATE OF THE ST	•
	•	
	***	*** TM4
	### ##################################	STALL
HSH2R_1		
D49783		10515.0
M32701		, , , , , , , , ,
U25440	TOTAL STATE OF THE PARTY OF THE	1351
\$57565		W//
573473		
M74716		W: : :
U64032		VP 1 F CO
L41147		
GPRv47	ALFGEVACRLYLFLSGCFGSLAILSGSAIGGERT TV THE WAR THE TOTAL OF THE TOTAL STATE OF THE TOTAL S	GYMLLIT
D43633		: 4
1		

	e ###### TM5 ######
	######################################
HSH2R_1	VISITLSFLSIHLGWNSRNEISKGNHTTSKCHVQVNEVYGLYDGLYTFYLPLLIMG VISITLSFLSIHLGWNSRNEISKGNHTTSKCKVQVNEVYGLYDGLYTFYLPLLIMG
D49783	
M32701	VISITLSFLSIHLGWNSRNETSSFNHTTFKCKVQVNEVYGLYDGLYTFYLPLLIM VISITLSFLSIHLGWNSRNETSKDNDTIVKCKVQVNEVYGLYDGLYTFYLPLLIM
U25440	VISITLSFLSIHLGWNSRNETSKUNDTIVKCKVQVNEVYGLVDGLVTFYLPLLIM VISITLSFLSIHLGWNSRNGTRGGN-DTFKCKVQVNEVYGLVDGLVTFYLPLLIM
\$57565	VISITESFES IHLGWNSRNGTRGGN-DIFRCKCASHMPYALLSSSVSFYLPLLYM
\$73473	VISITLSFLSIHLGWNSRNGIRGGN-DIFRCKFASHMPYALLSSSVSFYLPLLYM IVSATVSFAPIMSQWWRVGADAEAQECHSNPRCCSFASHMPYALLSSSVSFYLPLLYM
M74716	IVSATVSFAPIMSQWWRYGADAEAQECHSNPRCCSFASNMPYALLSSSVSFYLPLLYM IVSATVSFAPIMSQWWRYGADAEAQECHSNPRCCSFASNMPYALLSSSVSFYLPLLYM
U64032	IVSATVSFAPIMSQWWRVGADAEAQECHSHPRCCSGITEEVGYAVFSSLCSFYLPMAVI AVALVVS-MGPLLGWKEPVPPD-ERFCGITEEVGYAVFSSLCSFYLPMAVI
L41147	
GPRv47	
D43633	FKSLLLA-LYTLFGWPPYGHQSSIAASHCSLMASHSHCKGVVV
D43633	***
1101100 1	TYYRIFRVARDQAKRID-HISSWKAATIR
HSH2R_1	
D49783	
M32701	
U25440	TYPRIFKIAREQAKRIN-HISSWKAATIRDGYPSCGR
S57565	
573473	
M74716	
U64032	
L41147	
GPRv47	VYCSMFRVARVAAMQHGPLPTWMEIP
D43633	
ļ .	# # # # ##############################
HSH2R_1	
D49783	
M32701	
U25440	
\$57565	
573473	
M74716	
U64032	
L41147	RRLATKHSRKALKASLILGILLGMFFYWLFYFSFHLYVALSAQPISTGQVESVYTWIGY PQTTPHRTFGGGKAAVVLLAYGGGFLLCWLPYFSFHLYVALSAQPISTGGWKSPGDLEEAVNWLAY
GPRV47	PQTTPHRTFGGGKAAVVLLAVGGQFLLUWLFFF3THLQMSLTGSMKSPGDLEEAVNWLAY QRLSPERAFSGGKAALTLAF1VGQFLVCWLPFF1FHLQMSLTGSMKSPGDLEEAVNWLAY *:.*
D43633	QRLSPERAFSGGKAALILAFTYGGFLYGGLYTT
	•
	TM7 ######## ANSALNPILYAALNRDFRTGYQQLFCCRLANRNSHKTSLRSNASQLSRTQSREPRQ
HSH2R_1	
D49783	
M32701	
U25440	
\$57565	ANSALNPILYAALNRDFRTAYQQLFHCKFASHRISTRISTRISTRISTRISTRISTRISTRISTRISTRIST
573473	ANSAFNPLIYCR-SPDFRDAFRKLL-CSTGGRGFERPVVTFPASPVASR
M74716	
U64032	
L41147	
GPRv47	CNSTMNPIITPLEMROFKRALGKELPCFKCFKERAGS FCFTSNPFFYGCLNRQIRGELSKGFYCFFKPAPEEELRLPSREGSIEENFLQ FCFTSNPFFYGCLNRQIRGELSKGFYCFFKPAPEEELRLPSREGSIEENFLQ
	FCFTSNPFFYGCLNRQIRGELSKQFYCFFRPAPEEELRIS SREGISEUM EQ SSFAVNPSFYGLLNRQIRDELYKFRRCCYTQPVEIGPSSLEGSFQENFLQ
D43633	**

QEEKPLKLQVWSGTEVT
QEEKPLKLQVWSGTEVTAPQGATDR
QEEKPLKLQVWSGTEVTAPRGATDR
QEDKPLNLQVWSGTEVTAPQGATNR
QEEKPLKLQVWSGTELTHPQGNPIR
QNS-PLNRFDGYEGERP-FPT
QNS-PLNRFDGYEGERP-FPT
SAGAALPGAALALTAAPAPSSAAAPEGQAAGAGRRKPPCAFREWRLLGPLRRPTTQLRAK
OOVER PERPODED SON TO SEE THE PROPERTY OF THE
LOGTGCPSESWYSRPLPSPKQEPPAYDFRIPGQIAEETSEFLEQQLTSDIIMSDSYLRPA
IQRTSSSSETHPSFANSNP-RNMENQAHKIPGQIPEEQA
VSSLSHK I RAGGAQRAEAACALRSEVEAVALSVARDVAEDNTCQAYELADYRNLRETD I
EPELRPHPLGIPTN
ASPRLES

26/34



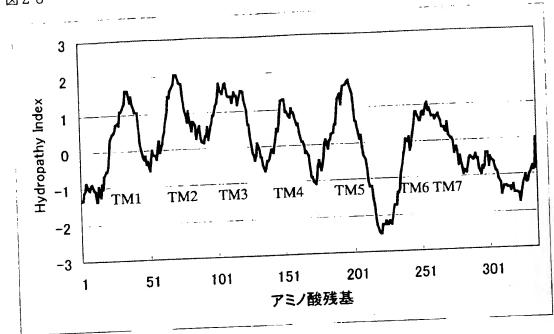


	######## TM1 #
SPRv51	MNQTLNSSGTVESALNYSRGSTVHTAYLVLSSLAMFTCLCGMA
135297	MAGNCSWEAHSTNQNKMCPGMSEALELYSRGFLTIEQIATLPPPAVTNYIFLLLCLCGLV
100101	*** *: ***** : 1:11 ****:.

GPRv51	GNSMVIWLLGFRMHRNPFCIYILNLAAADLLFLFSMASTLSLETQPLVN-TTDKVHELMK
M35297	GNGLVLWFFGFSIKRTPFSIYFLHLASADGIYLFSKAVIALLNMGTFLGSFPDYVRRVSR
ROOLS.	**.:*:*::*::::
	######## TM3 ######## ####### TM4 #######
GPRv51	RLMYFAYTVGLSLLTAISTQRCLSVLFPIWFKCHRPRHLSAWVCGLLWTLCLLMNGLTSS
M35297	IVGLCTFFAGVSLLPAISIERCVSVIFPMWYWRRRPKRLSAGVCALLWLLSFLVTSIHNV
m3023.	: :: .*:*** :** :**:**: :**::** :**::*** **.*** *.:*:: .
	######################################
GPRv51	FCSKFLKFNE-DRCFRVDMVQAALIMGVLTPVMTLSSLTLFVWVRRSSQQWRRQPTRLF
M35297	FCMFLGHEASGTACLNMDISLGILLFFLFCPLMVLPCLALILHVECRARRRQRS-AKLNI
	** ::: . *:.:*: . *::::: *:*:: *. :::::: *. ::::::::
	******** TMG ******** ******* TM7 ******
GPRv51	VVLASVLVFLICSLPLSIYWFVLYWLSLPPEMQVLCFSLSRLSSSVSSSANPVIYFLVG
M35297	VVLAIVSVFLVSSIYLGIDWFLFWVFQIPAPFPEYVTDLCICINSSAKPIVYFLAG
MJ J L J I	**** * ***:.*: *.* **::: :.:* : :: :: *. ::.**::::***.*
GPRv51	RRSHRLPTRSLGTVLQQALRE—EPELEGGETPTVGTNEMGA———— DKSQRLWEP-LRVVFQRALRDGAEPGDAASSTPNTVTMEMQCPSGNAS
U K T S .	

28/34



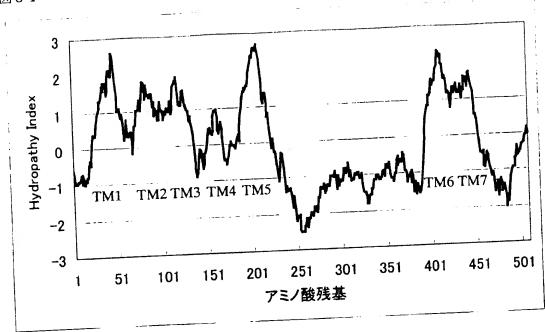


\$22222222 TM1 ##
MTSAESLLFTSLGPSPSSGDGDCRFNEEFKFILLPMSYAVVFVLGLAL
HTSAESLLFTSLGPSPSSGDGDCKFNEEFKEILIPISYAVVFVLGLAL
MPD//MUTTONC/)C/)C/ L/OCK (//#*/CVE///
* : * : * · * · * · * · * · * · * · * ·
222222 TM2 ####### #####################
***** COTI VVI SE PTI VVYYAARNHWPFGIGLCKFYK
NAVVIGQ I WLARKALTRITI Y WLNLAWADLLI Y COLL BLLLYNYARGDHWPFGDLACRLYR
.: : : :: :: + .: + : + . +: +: :: -: :: +: -: :: +:
assess TMA 11111
###TM3 #################################
FLFYANLHGSILFLTCISFQRYLGICHPLAFARTARGGARAHAWLGTSTTWALVVLQLLPTL FLFYINLYGSILLLTCISVHQFLGVCHPLCSLPYRTRR-HAWLGTSTTWALVVLQLLPTL
FLFYINLYGSILLLICISANGPLUACHT COSTI THIN
##: #:#:######.::: #:###: : : : : :
******** TM5 ******
PER PER LANGUAGE AVMVI LEGI PEL LTL VCYGLMARRLYRYL
FFYTNANGTT I LCHDTTLPEEFDHTYTF 35AVWYLLT GEFFELLTI VCYGLMARRLYRPL
FFYTTNANGTTILCHDTTLPEEFDHYYYFSSTIMYLLFGFPFLITLYCYGLMARRLYRPL FFYTTNANGTTILCHDTTLPEEFDHYYYFSSTIMYLLFGFPFLITLYCYGLMAKRLCKRS
VESTIDA I NCOM I MADMIZ OF MEDICAL ACTICACIONE CONTRACTOR
* : 1 * : * · · · · · · · · · · · · · · · · ·
*
\$\$ \$\$\$\$\$\$\$\$ TM6 \$\$\$\$\$\$\$\$\$
TOTAL
GPAGPYAQ-ERRSKAARMAYYAAYFYTS-LFFHTTKHALLANGAGELPALDGSQCGL EPHEDRQHSPSQYHPDHPTGVWPLHPLFCALPYHSLLLPHHLLSAFSGLPALDGSQCGL

	##### TM7 ######### YKYTRPLASANSCLDPVLYLFTGDKYRNQLQQLCRGSKPKPRTAASSL
Y14705	YKYTRPLASANSCLDPVLYLFTGDKYRNQLQQLCRGSTPKRRTTASSL YKYTRPLASANSCLDPVLYLFTGDKYRNQLQQLCRGSTPKRRPVPTSL
AJ277752	YKYTRPLASANSCLDPVLYLF1GDKTRIGET COLORD P-PPVPTSL
AF031897	YKITRPLASINSCLUPILIFMAGDRIAGHENDESSVONDECMHTNHPOTEPHMTAG
X99953	YKYTRPLASANSCIDPILTPLANDRIKKE IN A SUMO
AF069555	VKCTRPFASHNSVLDPILFTFIQRKFRESTRIESS
X98283	YKCTRPFASMNSVLDP1LFYF1QKKFRESTRILLESKIII
D63665	YKCTRPFASMNSVLDPILFYFTQRKFRESTRYLLDKMSAKWQRQ YKGTRPFASANSVLDPILFYFTQQKFRRQPHDLLQKLTAKWQRQ DMEASGECEQLPQPSPVLSFKGGKNRVRLLQKLRQNKLGEHPAGRK
GPRv71	DMEASGECEGLPQPSPALSPROGRAMANECANOLOGY
GPRVII	: · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
	ALVTLHEESISRWADTHQDSTFSAYEGDRL
Y14705	
AJ277752	LALVSPSVDSSVVGSCCNSESRGMGTVWSRGGQKRNSTDKNDMKE
AF031897	LALVSPSVDSSVVGSCCNSESRGMGTVWSRGGQ
X99953	HCTYGS
AF069555	HCISYGS
X98283	RV
D63665	RCPGLNRSG
GPRv71	
Y14705	
AJ277752	22 INWVACA
AF031897	NRHGENYLPYVEVVEKEDYETKRENRKTTEQSSKTNAEQDELQTQIDSRLKRGK W QLSS
χ99953	NKHGENTEPT VEVVERED PER
AF069555	
X98283	
D63665	
GPRv71	
Y14705	
AJ277752	۔
AF031897	KGAAQENEKGHMEPSFEGEGTSTWNLLTPKMYGKKDRLAKNYEEVGYGKEKELQNFPK
x99953	KGAAQENEKGHMEPSFEGEGISIWALLIFRANIONOO
AF069555	
X98283	
VAA-PA-	
D63665	

31/34





	######################################
	VALORALL CVILCEL IL FEVI GNILV
103866	MVFLSGNASDSSNCTQPPAPVNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
	MYFLSGNASDSSNCTQPPAPVNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
.31774	MYFLSGNASDSSNCTQPPAPVNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
25235	MYFLSGNASDSSNCTQPPAPVNISKAILLGYILGGLILFGYLGNILV
32202	MYFLSGNASDSSNCTQPPAPVNISKAILLGVILGGLILFGVLGNILV
32201	
AF013261	
J81982	MVFLSGNASDSSNCTHPPAPVNISKAILLGVILGGLIIFGVLGNILV
U07126	
S71323	
D63859	MTPSSVTLNCSNCSHVLAPEEGGVIITQFIAIIVITIFVCLGNLVI
AF091890	MSLNSSLSCRKELSNLTEEEGGEGGVTTTG MTSTCTNSTRESNSSHTCMPLSKMPISLAHGITRSTVLVIFLAASFVGNTVL :**:::
GPRv72	MTSTCTNSTRESNSSHICMPLSKMPISERINGTROTTE :::::::::::::::::::::::::::::::::::
UL WALE	** ** ** ** ** ** ** ** ** ** ** ** **
	######################################
	######################################
U03866	ILSVACHRHLHSVTHYY IVNLAVADLLLIS IVLPFSA IFEVLOYWAECHVECH WAAVDV
	ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRVFCNIWAAVDV
L31774	
D25235	ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRYFCNIWAAVDV ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRYFCNIWAAVDV
D32202	ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRYFCNIWAAVDV ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSAIFEVLGYWAFGRYFCNIWAAVDV
D32201	
AF013261	
U81982	
U07126	ILSVACHRHLHSVTHYYIVNLAVADLLLTSTVLPFSATFEILDRWVFGRVFCNIWAAVDV ILSVVCHRHLQTVTYYFIVNLAVADLLLSSTVLPFSATFEILDRWVFGRVFCNIWAAVDV
S71323	ILSVVCHRHLQTVTYYFIVNLAVADLLLSSTVLPFSAIFEILDRWVFGRVFCNIWAAVDV ILSVVCHRHLQTVTYYFIVNLAVADLLLSSTVLPFSAIFEILDRWVFGRVFCNIWAAVDV
D63859	ILSVVCHRHLQTVTYYFIVNLAVADLLLSSTVLFFSATTETEDRING IFGVVWCNFSALLYL VVTLYKKSYLLTLSNKFVFSLTLSNFLLSVLVLFFVVTSSIRREWIFGVVWCNFSALLYL
AF091890	VVTLYKKSYLLILSMKFVFSLILSMFLLSVLVADWVVATSVPLFWPLNSHFCTALVSLTF
GPRv72	VVTLYKKSYLLTLSNKFVFSLTLSNFLLSVLYLFFVVTSSTRREWTI ALVLQRKPQLLQVTNRF1FNLLVTDLLQ1SLVAPWVVATSVPLFWPLNSHFCTALVSLTH
5 ,	
	********* TM4 ********
	* IM3 ###################################
U03866	LCCTASINGLCIISIDRYIGVSYPLKYPIIVIQRCIMALICVWAISIVISIGPLFGWR-
L31774	LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLYISIGPLFGWR- LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLYISIGPLFGWR-
D25235	
	LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALICVWALSLVISIGPLFGWR
D32202	LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALICVWALSLVISIGPLFGWR
D32201	LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWALSLVISIGPLFGWR LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWAESLVISVGPLFGWR
AF013261	LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLMALLCVWAFSLVISVGPLFGWR LCCTASIISLCVISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGLRALLCVWAFSLVISIGPLFGWR
U81982	LCCTASIISLCVISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGVRALLCVWVLSLVISIGPLFGWR LCCTASIMGLCIISIDRYIGVSYPLRYPTIVTQRRGVRALLCVWVLSLVISIGPLFGWR
U07126	
\$71323	
D63859	
AF091890	
GPRv72	LFAFASVNTIVVVSVDRYLSIINFLSTFSRMTQRRG1222
1	± 1 ±± 1 ± ± 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1

A ######## TM5
0 ######## IM5 ####### IM5 ######## IM5
QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRVYVVAKRESRGLKS QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRVYVVAKRESRGLKS
QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRVYVVAKRESRGLKS QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRVYVVAKRESRGLKS
QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRYYVVAKRESRGLKS QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRYYVVAKRESRGLKS
QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRYYVVAKRESRGLKS QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRYYVVAKRESRGLKS
QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRVYVVAKRESRGLKS QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYLPLATILVMYCRVYVVAKRESRGLKS
QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYVPLTILAMYCRVYVVAKRESRGLKS QPAPDDETICQINEEPGYVLFSALGSFYVPLTILAMYCRVYVVAKRESRGLKS
QPAPDDETICQINEEPGYVLFSALGSFYVPLAIILVMYCRVYVVAKRESRGLKS QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYVPLAIILVMYCRVYVVAQKESRGLKE
QPAPEDETICQINEEPGYVLFSALGSFYVPLATILAMYCRVYVVAQKESRGLKE EPAPEDETVCKITEEPGYAIFSAVGSFYLPLATILAMYCRVYVVAQKESRGLKE
EPAPEDETYCKITEEPGTAIF SAVGST ILL ANYCHYYVVADKESRGLKE
EPAPEDETVCKITEEPGYAIFSAVUSFIEFENI VCVCETERVARVKARKVHC
VEFDEFKWMCVAAWHREPGYTAFWQIWCALFPFLVMLVCTU
AAFDERNALCSMIWGASPSTITLSVVSITVITC

GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GI KTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKIKIHFSVRLLKI SUBJEKSAKILGI VVG-
GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRILKFSREKKAAKTLGIVVG-
GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKTKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGMASAKIKIHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GLKTDKSDSEQVTLRIHRKNAPAGGSGVASAKNKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GLKTDKSDSEQYTLRIHRKNAPAGGSGVASAKNKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GLKTDKSDSEQYTLRIHRKNVPAEGGGVSSAKNKTHFSVRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GLKTDKSDSEQYTLRIHRKNYPAEGGGV55AKNKTHF3VRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GQKIEKSDSEQYILRMHRGNTTVSEDEALRSRTHFALRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GQKIEKSDSEQVILRMHRGNTTVSEDEALRSRTHFALRLLKFSREKKAAKTLGIVVG- GQKIEKSDSEQVILRMHRGNTTVSEDEALRSRTHFALRLLKFSREKKAAKTLGIVVG-
GQKIEKSDSEQVILRMHRGNTTVSED-EALKSRITH AERCELIS GTVVIVEEDAQRTGRKNSSTSTSSSGSRRNAFQGVVYSANQCK-ALITILVVLG- GTVVIVEEDAQRTGRKNSSTSTSSSGSRRNAFQGVVYSANQCK-ALITILVVLG-
GTVVIVEEDAQRTGRKNSSTSTSSSGSKRNAFQGVVTSARQAKDGSLKAKEGS SLEVRVKDCVENEDEEGAEKKEEFQDESEFRRQHEGEVKAKEGRMEAKDGSLKAKEGS
STEAKAKON AEUEDOT GWELLINGER 42
######################################
####### IND ####### COFFDDEXPSETVEKIVEHIGYLNSCIN
CFVLCWLPFFLVMPIGSFFPDFKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN
CFVLCWLPFFLVMPIGSFFPDFKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN
CFVLCWLPFFLVMPIGSFFPDFKPSETVFKIVFWLGYLNSCINCFVLCWLPFFLVMPIGSFFPDFKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN
CFVLCWLPFFLVMPIGSFFPDFKPSETVFKIVFWLGYLNSCIN
CFVLCWLPFLVWPIGSTTOP
CFYLCWLPFFLVWPIGSFFPD CYPDETVEKIVEWIGYLNSCIN
CFVLCWLPFFLVWFIGSFFFD CMCCETVEKIVEWIGYLNSCIN
CFVLCWLPFPLWMFIGSTTO
CFVLCWLPFFLVMPIGSFFPDFRSCTVFKITFWLGYFNSCINCFVLCWLPFFLVLPIGSIFPAYRPSDTVFKITFWLGYFNSCIN
CFVLCWLPFFLVLPIGSIFPAYRPSDTVFKITFWLGYFNSCINCFVLCWLPFFLVLPIGSIFPAYRPSDTVFKITFWLGYFNSCIN
CFVLCWLPFFLVLPIGSIFPATRYSDIVKWATWLSFASAVCHAFMVTWGPYMVVIASEALWGKSSVSPSLETWATWLSFASAVCH
AFNVTWGPYMVVIASEALWGR55V5F5LETWATHEUR TGTSESSVEARGSEEVRESSTVASDGSMEGKEGSTKVEENSMKADKGRTEVNQCSIDLO

-PIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI
-PIIYPCSSQEFKKAFQNVLKIQCLKRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLCRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHAPSQALEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHAPSQALEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHAPSQALEGQHRPIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFK
-PIIYPCSSQEFKKAFQNVLKIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFK
-PIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI
-PIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLCRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLCRKQSSKHALGYT-LHPPSQAVEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHKPIIYPCSSQEFKKAFQNVLRIQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI -PIIYLCSNQEFKKTVRKELLGNCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSISNRPLIYGLWNKTVRKELLGNCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSISNRPLIYGLWNKTVRKELLGNCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSISNRPLIYGLWN
-PITYPCSSQEFKKAFQNVLKTQCLCRKQSSKHALGYT-LHAPSQALEGQHKPITYPCSSQEFKKAFQNVLKTQCLRRKQSSKHALGYT-LHAPSQALEGQHKPITYPCSSQEFKKAFQNVLRTQCLRRRQSSKHALGYT-LHAPSQALEGQHKPITYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTTSLDSKT -PITYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTTSLDSKT -PITYLCSNQEFKKTVRKELLGNCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSTSNRPLTYGLWNKTVRKELLGNCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSTSNR- DDMEFGEDDINFSEDDVEAVNTPESLPPSRRNSNSNPPLPRCYQCKAAKVTFTTF: DMYRTPYGSRETFYRTSKTDGVCEWKFFSSMPRGSARTTVSKDQSSCTTARVRSK DMYRTPYGSRETFYRTSKTDGVCEWKFFSSMPRGSARTTVSKDQSSCTTARVRSK
-PITYPCSSQEFKKAFQNVLRTQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPITYPCSSQEFKKAFQNVLRTQCLRRRQSSKHALGYT-LHPPSQALEGQHRPITYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTTSLDSKT -PITYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTTSLDSKT -PITYLCSNQEFKKTVRKELLGNCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSTSNRPLTYGLWNKTVRKELLGNCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSTSNR- DDMEFGEDDINFSEDDVEAVNTPESLPPSRRNSNSNPPLPRCYQCKAAKVTFTTF: DMYRTPVGSRETFYRTSKTDGVCEWKFFSSMPRGSARTTVSKDQSSCTTARVRSK DMYRTPVGSRETFYRTSKTDGVCEWKFFSSMPRGSARTTVSKDQSSCTTARVRSK
-PITYPCSSQEFKKAFQNVLRTQCLKRKQSSKHXLGTT STITSLDSKG
-PITYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLKMTPKAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI-PITYLCSNQEFKKAFQSLLGVHCLRMTPRAHHHHLSVGQSQTQGHSLTISLDSKI-PLTYGLWNKTVRKELLGMCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSISNR-DDMEFGEDDINFSEDDVEAVNIPESLPPSRRNSNSNPPLPRCYQCKAAKVIFITIFS
-PITYLCSNQEFKKAFQSLLGMCLKMTFKARMINLSVAGGQRTSRLFSISNRPLTYGLWNKTVRKELLGMCFGDRYYREPFVQRQRTSRLFSISNR- DDMEFGEDDINFSEDDVEAVNIPESLPPSRRNSNSNPPLPRCYQCKAAKVIFITIF: DMVRIPVGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQSSCTTARVRSK DMVRIPVGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQSSCTTARVRSK
DMYRIPYGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITYSKDQSSCTTARVRSK
DMWRIPYGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITYSKDQSSCTTARVRSK DMVRIPYGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITYSKDQSSCTTARVRSK
DMVRIPVGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQSSCTTARVRSK DMVRIPVGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQSSCTTARVRSK
DMVRIPVGSRETFYRISKTDGVCEWKFF55MPKG5AKTTV5KDQ5-SCTTARVRSK
DMVRIPVGSRETFYRISKTDGVCEWKFF55MPKG5AKTTV5KDQ5-SCTTARVRSK
DMVRIPVGSRETFYRISKTDGVCEWKFF55MPKG5AKTTV5KDQ5-SCTTARVRSK
DMVRIPYGSRETFYRISK IDGVCEMRCF33MFRG3ARTTVSKDQSCTTARTKSR
DMYRIPYGSRETFYRISKIDGYCEWKFFSSMPRGSARITYSKDQSSCTTARTKSR DMYRIPYGSRETFYRISKTDGYCEWKFFSSMPRGSARITYSKDQSSCTTARGHTP DMYRIPYGSRETFYRISKTDGYCEWKFFSSMPRGSARITYSKDQSSCTTARRGMD
DMVRIPYGSRETFYRISKIDGVCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQSSCTTARRGMD DMVRIPYGSRETFYRISKTDGVCEWKFFSSMPRGSARITVSKDQSSCTTARRYSK
DWAKI BAGSKETEAK I SKIDGACFMKEL SOMBERGOVE I TABKOG WELMKEL SCHOOLS AND TABKOG WELMKEL S
DMVRIPVGSRETFYKISKIDGVCEWKFFSSMPRGSARITVPKDQSACTTARVRSM DMVRIPVGSGETFYKISKIDGVCEWKFFSSMPRGSARITVPKDQSACTTARVRSM
DMVRIPYGSGETFYKISKIDGVCEWKFFSSMPGGSARITYPKDQSACTTARVRSH DMVRIPYGSGETFYKISKTDGVCEWKFFSSMPGGSARITYPKDQSACTTARVRSH
- ITDLGLSPHLIALMAG
FLQVCCCVGPS-TPSLDKNHQVPTIKVHTISLSENGEEV
EFGACCCAGES-162FDKWHGALIKAHII2F2F444FF4
FLGACCCAGL2-162FDKMLGALIKAMILI2FQFWGFFA
FLEVCCCVGPS-TPSLDKNHQVFTTKVHTTSL3ENGECV VTRLECSGMILAHCNLRLPGSRDSPASASQAAGTTGDVPPGRRHQAQLIFVF
VTRLECSGMILAHCNLKLPGSKDSFASAGAAGTTOOTT
T
RYFTKNCREHIKHVNHMMPPWKRGLECFLQVCCCVGPS-TPNPGENHQVPTIKIHTISLSENGEEVFLQVCCCVGPS-TPNPGENHQVPTIKIHTISLCENGEEV
FLQVCCCVGPS-TPNPGENNQVPTIKITISICENCEEV
FLQVCCCVGSS-APRPEENHQAPTIKITITISEGENGEL
FLQVCCCVGSS-APRPEENHQVPTIKIHTISLGENGEEV
MLKKFFCKEKPPKEDSHPDLPGTEGGTEGKIVPSYDSATFP
ETGFHHYGQDDLDLLTS
FIAI HILL Adapparent

SEQUENCE LISTING

<110> HELIX RESEARCH INSTITUTE

<120> Novel G protein-coupled receptors and genes encoding them, and their production and use.

<130> H1-113DP1PCT

<140>

<141>

<150> JP 1999-375152

<151> 1999-12-28

<150> JP 2000-101339

<151> 2000-03-31

<160> 63

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 371

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Ala Asn Phe Thr Glu Gly Ser Phe Asp Ser Ser Gly Thr Gly

1 5 10 15

Gln Thr Leu Asp Ser Ser Pro Val Ala Cys Thr Glu Thr Val Thr Phe
20 25 30

Thr Glu Val Val Glu Gly Lys Glu Trp Gly Ser Phe Tyr Tyr Ser Phe

35 40 45

Lys Thr Glu Gln Leu Ile Thr Leu Trp Val Leu Phe Val Phe Thr Ile 50 55 60

Val Gly Asn Ser Val Val Leu Phe Ser Thr Trp Arg Arg Lys Lys Lys 65 70 75 80

Ser Arg Met Thr Phe Phe Val Thr Gln Leu Ala Ile Thr Asp Ser Phe 85 90 95

Thr Gly Leu Val Asn Ile Leu Thr Asp Ile Asn Trp Arg Phe Thr Gly
100 105 110

Asp Phe Thr Ala Pro Asp Leu Val Cys Arg Val Val Arg Tyr Leu Gln

Val Val Leu Leu Tyr Ala Ser Thr Tyr Val Leu Val Ser Leu Ser Ile 130

Asp Arg Tyr His Ala Ile Val Tyr Pro Met Lys Phe Leu Gln Gly Glu 145

Lys Gln Ala Arg Val Leu Ile Val Ile Ala Trp Ser Leu Ser Phe Leu
165 170 170 175

Phe Ser Ile Pro Thr Leu Ile Ile Phe Gly Lys Arg Thr Leu Ser Asn 180 185 190

Gly Glu Val Gln Cys Trp Ala Leu Trp Pro Asp Asp Ser Tyr Trp Thr

195 200 205 205

Pro Tyr Met Thr lle Val Ala Phe Leu Val Tyr Phe lle Pro Leu Thr 210 215 220

11eIleSerIleMetTyrGlyIleValIleArgThrIleTrpIleLys225230235235240

Ser Lys Thr Tyr Glu Thr Val Ile Ser Asn Cys Ser Asp Gly Lys Leu 245 250 255

Cys Ser Ser Tyr Asn Arg Gly Leu Ile Ser Lys Ala Lys Ile Lys Ala

4/66

260 265 270

Ile Lys Tyr Ser lle Ile Ile Ile Leu Ala Phe Ile Cys Cys Trp Ser 275 280 285

Pro Tyr Phe Leu Phe Asp Ile Leu Asp Asn Phe Asn Leu Leu Pro Asp

Thr Gln Glu Arg Phe Tyr Ala Ser Val lle Gln Asn Leu Pro Ala 305 310 310 310 310 315

Leu Asn Ser Ala Ile Asn Pro Leu Ile Tyr Cys Val Phe Ser Ser Ser 335

lle Ser Phe Pro Cys Arg Glu Gln Arg Ser Gln Asp Ser Arg Met Thr

Phe Arg Glu Arg Thr Glu Arg His Glu Met Gln Ile Leu Ser Lys Pro 355 360 365

Glu Phe Ile

370

<210> 2

<211> 363

5/66

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Gly Pro Gly Glu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Val Met Val Leu

Ala Val Ala Leu Leu Ser Asn Ala Leu Val Leu Cys Cys Ala Tyr

Ser Ala Glu Leu Arg Thr Arg Ala Ser Gly Val Leu Leu Val Asn Leu

Ser Leu Gly His Leu Leu Leu Ala Ala Leu Asp Met Pro Phe Thr Leu

Leu Gly Val Met Arg Gly Arg Thr Pro Ser Ala Pro Gly Ala Cys Gln

Val lle Gly Phe Leu Asp Thr Phe Leu Ala Ser Asn Ala Ala Leu Ser

Val Ala Ala Leu Ser Ala Asp Gln Trp Leu Ala Val Gly Phe Pro Leu

Arg Tyr Ala Gly Arg Leu Arg Pro Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Gly

6 / 66

115 120 125

Cys Ala Trp Gly Gln Ser Leu Ala Phe Ser Gly Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Ser Trp Leu Gly Tyr Ser Ser Ala Phe Ala Ser Cys Ser Leu Arg Leu 145 150 150

Pro Pro Glu Pro Glu Arg Pro Arg Phe Ala Ala Phe Thr Ala Thr Leu
165 170 170 175

His Ala Val Gly Phe Val Leu Pro Leu Ala Val Leu Cys Leu Thr Ser

Leu Gln Val His Arg Val Ala Arg His Cys Gln Arg Met Asp Thr
195 200 200 205 205 205

Val Thr Met Lys Ala Leu Ala Leu Leu Ala Asp Leu His Pro Ser Val 210 215 220

Arg Gln Arg Cys Leu Ile Gln Gln Lys Arg Arg His Arg Ala Thr 225 230 230 230 230 235 235 235 240 240

Arg Lys Ile Gly Ile Ala Ile Ala Thr Phe Leu Ile Cys Phe Ala Pro 245 250 255

7/66

Tyr Val Met Thr Arg Leu Ala Glu Leu Val Pro Phe Val Thr Val Asn 260 265 265 270 270 270 270

Ala Gln Trp Gly Ile Leu Ser Lys Cys Leu Thr Tyr Ser Lys Ala Val 275 280 285

Ala Asp Pro Phe Thr Tyr Ser Leu Leu Arg Arg Pro Phe Arg Gln Val

Leu Ala Gly Met Val His Arg Leu Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala 305

Ser Thr His Asp Ser Ser Leu Asp Val Ala Gly Met Val His Gln Leu 325 330 330

Leu Lys Arg Thr Pro Arg Pro Ala Ser Thr His Asn Gly Ser Val Asp

Thr Glu Asn Asp Ser Cys Leu Gln Gln Thr His
355 360

<210> 3

<211> 419

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Leu Ala Ala Ala Phe Ala Asp Ser Asn Ser Ser Ser Met Asn Val

Ser Phe Ala His Leu His Phe Ala Gly Gly Tyr Leu Pro Ser Asp Ser 20 25 30

Gln Asp Trp Arg Thr lle lle Pro Ala Leu Leu Val Ala Val Cys Leu
35 40 45

Val Gly Phe Val Gly Asn Leu Cys Val Ile Gly Ile Leu Leu His Asn 50 55 60

Ala Trp Lys Gly Lys Pro Ser Met Ile His Ser Leu Ile Leu Asn Leu 65 70 75 80

Ser Leu Ala Asp Leu Ser Leu Leu Leu Phe Ser Ala Pro Ile Arg Ala 85 90 95

Thr Ala Tyr Ser Lys Ser Val Trp Asp Leu Gly Trp Phe Val Cys Lys
100 105 110

Ser Ser Asp Trp Phe Ile His Thr Cys Met Ala Ala Lys Ser Leu Thr
115 120 125

PCT/JP00/09408 WO 01/48188

9/66

Ile Val Val Val Ala Lys Val Cys Phe Met Tyr Ala Ser Asp Pro Ala 130 135 140

Lys Gln Val Ser Ile His Asn Tyr Thr Ile Trp Ser Val Leu Val Ala 145

Ile Trp Thr Val Ala Ser Leu Leu Pro Leu Pro Glu Trp Phe Phe Ser 165 170 175

Thr lle Arg His His Glu Gly Val Glu Met Cys Leu Val Asp Val Pro 180 185 190

Ala Val Ala Glu Glu Phe Met Ser Met Phe Gly Lys Leu Tyr Pro Leu
195 200 205

Leu Ala Phe Gly Leu Pro Leu Phe Phe Ala Ser Phe Tyr Phe Trp Arg

Ala Tyr Asp Gln Cys Lys Lys Arg Gly Thr Lys Thr Gln Asn Leu Arg 225 230 230 230 240

Asn Gln Ile Arg Ser Lys Gln Val Thr Val Met Leu Leu Ser Ile Ala
245 250 255

lle lle Ser Ala Val Leu Trp Leu Pro Glu Trp Val Ala Trp Leu Trp
260 265 270 270 270

Val	Trp	His	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Pro	Gln	Gly	Phe	Ile
		275					280					285			

Ala	Leu	Ser	Gln	Val	Leu	Met	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ala	Asn	Pro	Leu
	290					295					300				

11e Phe Leu Val Met Ser Glu Glu Phe Arg Glu Gly Leu Lys Gly Val305310315320

Trp Lys Trp Met Ile Thr Lys Lys Pro Pro Thr Val Ser Glu Ser Gln 325 330 335

Glu Thr Pro Ala Gly Asn Ser Glu Gly Leu Pro Asp Lys Val Pro Ser 340 345 350

Pro Glu Ser Pro Ala Ser Ile Pro Glu Lys Glu Lys Pro Ser Ser Pro 355 360 365

Ser Ser Gly Lys Gly Lys Thr Glu Lys Ala Glu Ile Pro Ile Leu Pro 370 375 380

Asp Val Glu Gln Phe Trp His Glu Arg Asp Thr Val Pro Ser Val Gln 385 390 395 400

Asp Asn Asp Pro Ile Pro Trp Glu His Glu Asp Gln Glu Thr Gly Glu

WO 01/48188 PCT/JP00/09408

11/66

405 410 415

Gly Val Lys

<210> 4

<211> 393

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Glu Thr Thr Met Gly Phe Met Asp Asp Asn Ala Thr Asn Thr Ser

1 5 10 15

Thr Ser Phe Leu Ser Val Leu Asn Pro His Gly Ala His Ala Thr Ser 20 25 30

Phe Pro Phe Asn Phe Ser Tyr Ser Asp Tyr Asp Met Pro Leu Asp Glu
35 40 45

Asp Glu Asp Val Thr Asn Ser Arg Thr Phe Phe Ala Ala Lys Ile Val 50 55 60

Ile Gly Met Ala Leu Val Gly Ile Met Leu Val Cys Gly Ile Gly Asn 65 70 75 80

Phe Ile Phe Ile Ala Ala Leu Val Arg Tyr Lys Lys Leu Arg Asn Leu

Thr Asn Leu Leu Ile Ala Asn Leu Ala Ile Ser Asp Phe Leu Val Ala

Ile Val Cys Cys Pro Phe Glu Met Asp Tyr Tyr Val Val Arg Gln Leu

Ser Trp Glu His Gly His Val Leu Cys Thr Ser Val Asn Tyr Leu Arg

Thr Val Ser Leu Tyr Val Ser Thr Asn Ala Leu Leu Ala Ile Ala Ile

Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Pro Leu Arg Pro Arg Met Lys Cys

Gln Thr Ala Thr Gly Leu Ile Ala Leu Val Trp Thr Val Ser Ile Leu

Ile Ala Ile Pro Ser Ala Tyr Phe Thr Thr Glu Thr Val Leu Val Ile

Val Lys Ser Gln Glu Lys Ile Phe Cys Gly Gln Ile Trp Pro Val Asp

210

215

220

Gln Gln Leu Tyr Tyr Lys Ser Tyr Phe Leu Phe Ile Phe Gly Ile Glu 225 230 235 240

Phe Val Gly Pro Val Val Thr Met Thr Leu Cys Tyr Ala Arg Ile Ser 245 250 255

Arg Glu Leu Trp Phe Lys Ala Val Pro Gly Phe Gln Thr Glu Gln Ile
260 265 270

Arg Lys Arg Leu Arg Cys Arg Arg Lys Thr Val Leu Val Leu Met Cys
275
280
285

Ile Leu Thr Ala Tyr Val Leu Cys Trp Ala Pro Phe Tyr Gly Phe Thr 290 295 300

Ile Val Arg Asp Phe Phe Pro Thr Val Phe Val Lys Glu Lys His Tyr 305 310 315 320

Leu Thr Ala Phe Tyr Ile Val Glu Cys Ile Ala Met Ser Asn Ser Met
325 330 335

Ile Asn Thr Leu Cys Phe Val Thr Val Lys Asn Asp Thr Val Lys Tyr 340 345 350

WO 01/48188 PCT/JP00/09408

14/66

Phe Lys Lys Ile Met Leu Leu His Trp Lys Ala Ser Tyr Asn Gly Gly
355 360 365

Lys Ser Ser Ala Asp Leu Asp Leu Lys Thr Ile Gly Met Pro Ala Thr 370 375 380

Glu Glu Val Asp Cys Ile Arg Leu Lys 385 390

<210> 5

<211> 1116

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

tggcctgacg actectactg gaccccatac atgaccatcg tggccttcct ggtgtacttc 660
atccctctga caatcatcag catcatgtat ggcattgtga tccgaactat ttggattaaa 720
agcaaaaacct acgaaacagt gatttccaac tgctcagatg ggaaactgtg cagcagctat 780
aaccgaggac tcatctcaaa ggcaaaaatc aaggctatca agtatagcat catcatcatt 840
cttgccttca tctgctgttg gagtccatac ttcctgtttg acattttgga caatttcaac 900
ctccttccag acacccagga gcgtttctat gcctctgtga tcattcagaa cctgccagca 960
ttgaatagtg ccatcaaccc cctcatctac tgtgtcttca gcagctccat ctctttcccc 1020
tgcagggagc aaagatcaca ggattccaga atgacgttcc gggagagaac tgagaggcat 1080
gagatgcaga ttctgtccaa gccagaattc atctag

<210> 6

<211> 1092

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

atgggccccg gcgaggcgct gctggcgggt ctcctggtga tggtactggc cgtggcgctg 60 ctatccaacg cactggtgct gctttgttgc gcctacagcg ctgagctccg cactcgagcc 120 tcaggcgtcc tcctggtgaa tctgtctctg ggccacctgc tgctggcggg gctggacatg 180 cccttcacgc tgctcggtgt gatgcgcggg cggacaccgt cggcgcccgg cgcatgccaa 240 gtcattggct tcctggacac cttcctggcg tccaacgcgg cgctgagcgt ggcggcgctg 300 agcgcagacc agtggctgc agtggcttc ccaacgcgg cgctgacgt gccggaccg 360 cgctatgcca gcctgctgct ggcgtgcc tgggacaagt cgctggcctt ctcaggcgt tggcacttggct gccgcggc gccggcctg gccgcctg gccctggcct tggcacttggcc gcccgagcct cgctggcct gccgcccg cgccgagcc ctcaggcct tggctacagc agcgccttcg cgtcctgttc gctgcgcct 420 ccgcccgagc ctgagcgtc gcgcttcga gccttcgac gccttcgaccg ccacgctca tgccgggc 540

ttegtgetge egetggeggt getetgeete acetegetee aggtgeaeeg ggtggeaege 600
agacactgee agegeatgga eacegteaee atgaaggege tegegetget egeegaeet 660
caceceagtg tgeggeageg etgeeteate eageagaage ggegeegeea eegegeeaee 720
aggaagattg geattgetat tgegaeette eteatetget ttgeeeegta tgteatgaee 780
aggetggegg agetegtgee ettegteaee gtgaaegeee agtggggeat eeteageaag 840
tgeetgaeet acageaagge ggtggeegae eegtteaegt actetetget eegeeggeeg 900
tteegeeaag teetggeegg eatggtgae eegetgetga agaagaaeee ggeeeagea 960
teeaeeeatg acagetetet ggatgtgee ggeatggtee aceagetget gaagagaaee 1020
eegegeeeag egteeaeeea eaaeggetet gtggaeaeag agaatgatte etgeetgeag 1080
eagacaeaet ga

<210> 7

<211> 1260

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

atgctggcag ctgcctttgc agactctaac tccagcagca tgaatgtgc ctttgctcac 60 ctccactttg ccggagggta cctgcctct gattccagg actggagaac catcatcccg 120 gctctcttgg tggctgtctg cctggtgggc ttcgtgggaa acctgtgtgt gattggcatc 180 ctccttcaca atgcttggaa aggaaagcca tccatgatcc actccctgat tctgaatctc 240 agcctggctg atctctccct cctgctgttt tctgcaccta tccgagctac ggcgtactcc 300 aaaagtgttt gggatctagg ctggtttgtc tgcaagtcct ctgactggtt tatccacaca 360 tgcatggcag ccaaggacct gacaatcgtt gtggtggcca aagtatgctt catgtatgca 420 agtgacccag ccaagcaagt gagtatccac aactacacca tctggtcagt gctggtggcc 480

atettggaetg tggaaatgt cetegtggat gtaccagetg tggetgaaga gtttatgteg 600 atggaaatgt gagettatga cetegtggat gtaccagetg tggetgaaga gtttatgteg 600 atgtttggta agetetacce acteetggea tttggeette cattatttt tgeeagettt 660 tattettetga gagettatga ceaatgtaaa aaacgaggaa etaagaetea aaatettaga 720 aaccagatae geteaaagea agteacagtg atgeetgga geattgeeat cateeteget 780 gtettgtgge teecegaatg ggtagettgg etgtgggtat ggeatetgaa ggetgeagge 840 eeggeeecae cacaaggtt catageeetg teteaagtet tgatttte cateetetea 900 geaaateete teattttet tgtgatgtee gaagagttea gggaaggett gaaaggtgta 960 tggaaatgga tgataaceaa aaaaceteea aetgteteag agteteagga aacaecaget 1020 ggeaacteag agggetetee tgacaaggtt ceateeteeag aateeceage ateeatacea 1080 gaaaaaggaa aacceagete teeeteete ggeaaaggga aaactgagaa ggeaggatt 1140 eecateette etgacagtag ggaacatgaa gateaagaga caggggaagg tgttaaatag 1260

<210> 8

<211> 1182

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

atggagacca ccatggggtt catggatgac aatgccacca acacttccac cagcttcctt 60 tctgtgctca accctcatgg agcccatgcc acttccttc cattcaactt cagctacagc 120 gactatgata tgcctttgga tgaagatgag gatgtgacca attccaggac gttctttgct 180 gccaagattg tcattgggat ggccctggtg ggcatcatgc tggtctgcgg cattggaaac 240 ttcatcttta tcgctgcct ggtccgctac aagaaactgc gcaacctcac caacctgctc 300

ategecaace tggccatete tgactteetg gtggccattg tetgetgeee etttgagatg 360 gactactatg tggtgcgcca gctctcctgg gagcacggcc acgtcctgtg cacctctgtc 420 aactacctgc gcactgtctc tctctatgtc tccaccaatg ccctgctggc catcgccatt 480 gacaggtatc tggctattgt ccatccgctg agaccacgga tgaagtgcca aacagccact 540 ggcctgattg ccttggtgtg gacggtgtcc atcctgatcg ccatcccttc cgcctacttc 600 accaccgaga cggtcctcgt cattgtcaag agccaggaaa agatcttctg cggccagatc 660 tggcctgtgg accagcagct ctactacaag tcctacttcc tctttatctt tggcatagaa 720 ttcgtgggcc ccgtggtcac catgaccctg tgctatgcca ggatctcccg ggagctctgg 780 ttcaaggcgg tccctggatt ccagacagag cagatccgca agaggctgcg ctgccgcagg 840 aagacggtcc tggtgctcat gtgcatcctc accgcctacg tgctatgctg ggcgcccttc 900 tacggettea ceategtgeg egacttette eccaeegtgt ttgtgaagga gaagcactae 960 ctcactgcct tctacatcgt cgagtgcatc gccatgagca acagcatgat caacactctg 1020 tgcttcgtga ccgtcaagaa cgacaccgtc aagtacttca aaaagatcat gttgctccac 1080 tggaaggett ettacaatgg eggtaagtee agtgeagace tggaeeteaa gacaattggg 1140 1182 atgcctgcca ccgaagaggt ggactgcatc agactaaaat aa

<210> 9

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 9

atgccagcca acttcacaga gggcagct

28

<210> 10

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 10

ctagatgaat tctggcttgg acagaatc

28

<210> 11

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 11

atgggcccg gcgaggcgct gctggcgg

28

<210> 12

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 12

tcagtgtgtc tgctgcaggc aggaatca

28

<210> 13

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 13

atgctggcag ctgcctttgc agactctaac

30

<210> 14

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 14

ctatttaaca ccttcccctg tctcttgatc

30

<210> 15

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 15

atggagacca ccatggggtt catggatg

28

<210> 16

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 16

ttattttagt ctgatgcagt ccacctcttc

30

<210> 17

<211> 434

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Glu Asp Leu Phe Ser Pro Ser Ile Leu Pro Pro Ala Pro Asn Ile

1

5

10

15

Ser Val Pro Ile Leu Leu Gly Trp Gly Leu Asn Leu Thr Leu Gly Gln
20 25 30

Gly Ala Pro Ala Ser Gly Pro Pro Ser Arg Arg Val Arg Leu Val Phe 35 40 45

Leu Gly Val Ile Leu Val Val Ala Val Ala Gly Asn Thr Thr Val Leu 50 55 60

Cys Arg Leu Cys Gly Gly Gly Gly Pro Trp Ala Gly Pro Lys Arg Arg
65 70 75 80

Lys Met Asp Phe Leu Leu Val Gln Leu Ala Leu Ala Asp Leu Tyr Ala 85 90 95

Cys Gly Gly Thr Ala Leu Ser Gln Leu Ala Trp Glu Leu Leu Gly Glu
100 105 110

Pro Arg Ala Ala Thr Gly Asp Leu Ala Cys Arg Phe Leu Gln Leu Leu
115 120 125

Gln Ala Ser Gly Arg Gly Ala Ser Ala His Leu Val Val Leu Ile Ala 130 135 140

Leu Glu Arg Arg Arg Ala Val Arg Leu Pro His Gly Arg Pro Leu Pro 145 150 155 160

Ala Arg Ala Leu Ala Ala Leu Gly Trp Leu Leu Ala Leu Leu Leu Ala 165 170 175

Leu Pro Pro Ala Phe Val Val Arg Gly Asp Ser Pro Ser Pro Leu Pro 180 185 190

Pro Pro Pro Pro Pro Thr Ser Leu Gln Pro Gly Ala Pro Pro Ala Ala 195 200 205

Arg Ala Trp Pro Gly Gln Arg Arg Cys His Gly Ile Phe Ala Pro Leu 210 215 220

Pro Arg Trp His Leu Gln Val Tyr Ala Phe Tyr Glu Ala Val Ala Gly
225 230 235 240

Phe Val Ala Pro Val Thr Val Leu Gly Val Ala Cys Gly His Leu Leu 245 250 255

Ser Val Trp Trp Arg His Arg Pro Gln Ala Pro Ala Ala Ala Ala Pro
260 265 270

Trp Ser Ala Ser Pro Gly Arg Ala Pro Ala Pro Ser Ala Leu Pro Arg 275 280 285

Ala Lys Val Gln Ser Leu Lys Met Ser Leu Leu Leu Ala Leu Leu Phe

WO 01/48188 PCT/JP00/09408

25/66

290 295 300

Val Gly Cys Glu Leu Pro Tyr Phe Ala Ala Arg Leu Ala Ala Ala Trp 305 310 315 320

Ser Ser Gly Pro Ala Gly Asp Trp Glu Gly Glu Gly Leu Ser Ala Ala 325 330 335

Leu Arg Val Val Ala Met Ala Asn Ser Ala Leu Asn Pro Phe Val Tyr
340 345 350

Leu Phe Phe Gln Ala Gly Asp Cys Arg Leu Arg Arg Gln Leu Arg Lys
355 360 365

Arg Leu Gly Ser Leu Cys Cys Ala Pro Gln Gly Gly Ala Glu Asp Glu 370 375 380

Glu Gly Pro Arg Gly His Gln Ala Leu Tyr Arg Gln Arg Trp Pro His
385 390 395 400

Pro His Tyr His His Ala Arg Arg Glu Pro Leu Asp Glu Gly Gly Leu
405 410 415

Arg Pro Pro Pro Pro Arg Pro Arg Pro Leu Pro Cys Ser Cys Glu Ser 420 425 430

Ala Phe

<210> 18

<211> 451

<212> PRT

<213 > Homo sapiens

<400> 18

Met Glu Ser Ser Pro Ile Pro Gln Ser Ser Gly Asn Ser Ser Thr Leu

1 5 10 15

Gly Arg Val Pro Gln Thr Pro Gly Pro Ser Thr Ala Ser Gly Val Pro
20 25 30

Glu Val Gly Leu Arg Asp Val Ala Ser Glu Ser Val Ala Leu Phe Phe 35 40 45

Met Leu Leu Leu Asp Leu Thr Ala Val Ala Gly Asn Ala Ala Val Met 50 55 60

Ala Val Ile Ala Lys Thr Pro Ala Leu Arg Lys Phe Val Phe Val Phe 65 70 75 80

His Leu Cys Leu Val Asp Leu Leu Ala Ala Leu Thr Leu Met Pro Leu

WO 01/48188 PCT/JP00/09408

27/66

85 90 95

Ala Met Leu Ser Ser Ser Ala Leu Phe Asp His Ala Leu Phe Gly Glu 100 105 110

Val Ala Cys Arg Leu Tyr Leu Phe Leu Ser Val Cys Phe Val Ser Leu
115 120 125

Ala Ile Leu Ser Val Ser Ala Ile Asn Val Glu Arg Tyr Tyr Val 130 135 140

Val His Pro Met Arg Tyr Glu Val Arg Met Thr Leu Gly Leu Val Ala 145 150 155 160

Ser Val Leu Val Gly Val Trp Val Lys Ala Leu Ala Met Ala Ser Val 165 170 175

Pro Val Leu Gly Arg Val Ser Trp Glu Glu Gly Ala Pro Ser Val Pro 180 185 190

Pro Gly Cys Ser Leu Gln Trp Ser His Ser Ala Tyr Cys Gln Leu Phe 195 200 205

Val Val Phe Ala Val Leu Tyr Phe Leu Leu Pro Leu Leu Ile 210 215 220

Leu Val Val Tyr Cys Ser Met Phe Arg Val Ala Arg Val Ala Ala Met 225 230 230 235 240

Gln His Gly Pro Leu Pro Thr Trp Met Glu Thr Pro Arg Gln Arg Ser 245 250 255

Glu Ser Leu Ser Ser Arg Ser Thr Met Val Thr Ser Ser Gly Ala Pro 260 265 270

Gln Thr Thr Pro His Arg Thr Phe Gly Gly Gly Lys Ala Ala Val Val
275
280
285

Leu Leu Ala Val Gly Gly Gln Phe Leu Leu Cys Trp Leu Pro Tyr Phe 290 295 300

Ser Phe His Leu Tyr Val Ala Leu Ser Ala Gln Pro Ile Ser Thr Gly 305 310 315 320

Gln Val Glu Ser Val Val Thr Trp Ile Gly Tyr Phe Cys Phe Thr Ser 325 330 335

Asn Pro Phe Phe Tyr Gly Cys Leu Asn Arg Gln Ile Arg Gly Glu Leu 340 345 350

Ser Lys Gln Phe Val Cys Phe Phe Lys Pro Ala Pro Glu Glu Glu Leu 355 360 365

Arg Leu Pro Ser Arg Glu Gly Ser Ile Glu Glu Asn Phe Leu Gln Phe 370 375 380

Leu Gln Gly Thr Gly Cys Pro Ser Glu Ser Trp Val Ser Arg Pro Leu 385 390 395 400

Pro Ser Pro Lys Gln Glu Pro Pro Ala Val Asp Phe Arg Ile Pro Gly
405 410 415

Gln Ile Ala Glu Glu Thr Ser Glu Phe Leu Glu Gln Gln Leu Thr Ser 420 425 430

Asp Ile Ile Met Ser Asp Ser Tyr Leu Arg Pro Ala Ala Ser Pro Arg
435 440 445

Leu Glu Ser

450

<210> 19

<211> 321

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Asn Gln Thr Leu Asn Ser Ser Gly Thr Val Glu Ser Ala Leu Asn
1 5 10 15

Tyr Ser Arg Gly Ser Thr Val His Thr Ala Tyr Leu Val Leu Ser Ser 20 25 30

Leu Ala Met Phe Thr Cys Leu Cys Gly Met Ala Gly Asn Ser Met Val
35 40 45

Ile Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Asn Pro Phe Cys Ile Tyr
50 55 60

Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Leu Leu Phe Leu Phe Ser Met Ala 65 70 75 80

Ser Thr Leu Ser Leu Glu Thr Gln Pro Leu Val Asn Thr Thr Asp Lys

85 90 95

Val His Glu Leu Met Lys Arg Leu Met Tyr Phe Ala Tyr Thr Val Gly
100 105 110

Leu Ser Leu Leu Thr Ala Ile Ser Thr Gln Arg Cys Leu Ser Val Leu 115 120 125

Phe Pro Ile Trp Phe Lys Cys His Arg Pro Arg His Leu Ser Ala Trp
130 135 140

Val Cys Gly Leu Leu Trp Thr Leu Cys Leu Leu Met Asn Gly Leu Thr Ser Ser Phe Cys Ser Lys Phe Leu Lys Phe Asn Glu Asp Arg Cys Phe Arg Val Asp Met Val Gln Ala Ala Leu Ile Met Gly Val Leu Thr Pro Val Met Thr Leu Ser Ser Leu Thr Leu Phe Val Trp Val Arg Arg Ser Ser Gln Gln Trp Arg Arg Gln Pro Thr Arg Leu Phe Val Val Leu Ala Ser Val Leu Val Phe Leu Ile Cys Ser Leu Pro Leu Ser Ile Tyr

Cys Phe Ser Leu Ser Arg Leu Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Ala Asn 260 265 270

Trp Phe Val Leu Tyr Trp Leu Ser Leu Pro Pro Glu Met Gln Val Leu

Pro Val Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Arg Arg Ser His Arg Leu Pro

275

280

285

Thr Arg Ser Leu Gly Thr Val Leu Gln Gln Ala Leu Arg Glu Glu Pro 290 295 300

Glu Leu Glu Gly Gly Glu Thr Pro Thr Val Gly Thr Asn Glu Met Gly 305 310 315 320

Ala

<210> 20

<211> 333

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Glu Lys Val Asp Met Asn Thr Ser Gln Glu Gln Gly Leu Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ser Glu Lys Tyr Lys Gln Val Tyr Leu Ser Leu Ala Tyr Ser Ile
20 25 30

Ile Phe Ile Leu Gly Leu Pro Leu Asn Gly Thr Val Leu Trp His Phe
35 40 45

Trp Gly Gln Thr Lys Arg Trp Ser Cys Ala Thr Thr Tyr Leu Val Asn 50 55 60

Leu Met Val Ala Asp Leu Leu Tyr Val Leu Leu Pro Phe Leu Ile Ile 65 70 75 80

Thr Tyr Ser Leu Asp Asp Arg Trp Pro Phe Gly Glu Leu Leu Cys Lys
85 90 95

Leu Val His Phe Leu Phe Tyr Ile Asn Leu Tyr Gly Ser Ile Leu Leu 100 105 110

Leu Thr Cys Ile Ser Val His Gln Phe Leu Gly Val Cys His Pro Leu
115 120 125

Cys Ser Leu Pro Tyr Arg Thr Arg Arg His Ala Trp Leu Gly Thr Ser 130 135 140

Thr Thr Trp Ala Leu Val Val Leu Gln Leu Leu Pro Thr Leu Ala Phe
145 150 155 160

Ser His Thr Asp Tyr Ile Asn Gly Gln Met Ile Trp Tyr Asp Met Thr 165 170 175

Ser Gln Glu Asn Phe Asp Arg Leu Phe Ala Tyr Gly Ile Val Leu Thr

180

185

190

Leu Ser Gly Phe Leu Ser Leu Leu Gly His Phe Gly Val Leu Phe Thr

Asp Gly Gln Glu Pro Asp Gln Ala Arg Gly Glu Pro His Glu Asp Arg 210 215 220

Gln His Ser Pro Ser Gln Val His Pro Asp His Pro Thr Gly Val Trp
225 230 235 240

Pro Leu His Pro Leu Phe Cys Ala Leu Pro Tyr His Ser Leu Leu Leu 245 250 255

Pro His His Leu Leu Ser Ala Phe Ser Gly Leu Pro Ala Leu Asp Gly 260 265 270

Ser Gln Cys Gly Leu Gln Asp Met Glu Ala Ser Gly Glu Cys Glu Gln 275 280 285

Leu Pro Gln Pro Ser Pro Val Leu Ser Phe Lys Gly Gly Lys Asn Arg 290 295 300

Val Arg Leu Leu Gln Lys Leu Arg Gln Asn Lys Leu Gly Glu His Pro 305 310 315 320

Ala Gly Arg Lys Arg Cys Pro Gly Leu Asn Arg Ser Gly 330 325

<210> 21

<211> 508

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Thr Ser Thr Cys Thr Asn Ser Thr Arg Glu Ser Asn Ser Ser His

1

5

10

15

Thr Cys Met Pro Leu Ser Lys Met Pro Ile Ser Leu Ala His Gly Ile

20

25

30

lle Arg Ser Thr Val Leu Val Ile Phe Leu Ala Ala Ser Phe Val Gly

35

40

45

Asn Ile Val Leu Ala Leu Val Leu Gln Arg Lys Pro Gln Leu Leu Gln

50

55

60

Val Thr Asn Arg Phe Ile Phe Asn Leu Leu Val Thr Asp Leu Leu Gln

65

70

75

80

lle Ser Leu Val Ala Pro Trp Val Val Ala Thr Ser Val Pro Leu Phe

WO 01/48188

36/66

85

90

95

Trp Pro Leu Asn Ser His Phe Cys Thr Ala Leu Val Ser Leu Thr His
100 105 110

Leu Phe Ala Phe Ala Ser Val Asn Thr Ile Val Val Val Ser Val Asp 115 120 125

Arg Tyr Leu Ser Ile Ile His Pro Leu Ser Tyr Pro Ser Lys Met Thr
130 135 140

Gln Arg Arg Gly Tyr Leu Leu Leu Tyr Gly Thr Trp Ile Val Ala Ile
145 150 155 160

Leu Gln Ser Thr Pro Pro Leu Tyr Gly Trp Gly Gln Ala Ala Phe Asp 165 170 175

Glu Arg Asn Ala Leu Cys Ser Met Ile Trp Gly Ala Ser Pro Ser Tyr 180 185 190

Thr IIe Leu Ser Val Val Ser Phe IIe Val IIe Pro Leu IIe Val Met
195 200 205

Ile Ala Cys Tyr Ser Val Val Phe Cys Ala Ala Arg Arg Gln His Ala 210 215 220

Leu Leu Tyr Asn Val Lys Arg His Ser Leu Glu Val Arg Val Lys Asp
225 230 235 240

Cys Val Glu Asn Glu Asp Glu Glu Gly Ala Glu Lys Lys Glu Glu Phe
245 250 255

Gln Asp Glu Ser Glu Phe Arg Arg Gln His Glu Gly Glu Val Lys Ala 260 265 270

Lys Glu Gly Arg Met Glu Ala Lys Asp Gly Ser Leu Lys Ala Lys Glu 275 280 285

Gly Ser Thr Gly Thr Ser Glu Ser Ser Val Glu Ala Arg Gly Ser Glu 290 295 300

Glu Val Arg Glu Ser Ser Thr Val Ala Ser Asp Gly Ser Met Glu Gly
305 310 315 320

Lys Glu Gly Ser Thr Lys Val Glu Glu Asn Ser Met Lys Ala Asp Lys 325 330 335

Gly Arg Thr Glu Val Asn Gln Cys Ser Ile Asp Leu Gly Glu Asp Asp
340 345 350

Met Glu Phe Gly Glu Asp Asp Ile Asn Phe Ser Glu Asp Asp Val Glu
355 360 365

Ala Val Asn Ile Pro Glu Ser Leu Pro Pro Ser Arg Arg Asn Ser Asn 370 375 380

Ser Asn Pro Pro Leu Pro Arg Cys Tyr Gln Cys Lys Ala Ala Lys Val 385 390 395 400

Ile Phe Ile Ile Ile Phe Ser Tyr Val Leu Ser Leu Gly Pro Tyr Cys
405 410 415

Phe Leu Ala Val Leu Ala Val Trp Val Asp Val Glu Thr Gln Val Pro
420 425 430

Gln Trp Val Ile Thr Ile Ile Ile Trp Leu Phe Phe Leu Gln Cys Cys
435
440
445

Ile His Pro Tyr Val Tyr Gly Tyr Met His Lys Thr Ile Lys Lys Glu
450 455 460

Ile Gln Asp Met Leu Lys Lys Phe Phe Cys Lys Glu Lys Pro Pro Lys
465 470 475 480

Glu Asp Ser His Pro Asp Leu Pro Gly Thr Glu Gly Gly Thr Glu Gly
485
490
495

Lys Ile Val Pro Ser Tyr Asp Ser Ala Thr Phe Pro

500

505

<210> 22

<211> 1305

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 22

atggaggate tetttagece etcaattetg eegeeggege ceaacattte egtgeecate 60 ttgctgggct ggggtctcaa cctgaccttg gggcaaggag cccctgcctc tgggccgccc 120 agccgccgcg tccgcctggt gttcctgggg gtcatcctgg tggtggcggt ggcaggcaac 180 aagatggact teetgetggt geagetggee etggeggace tgtaegegtg egggggeacg 300 gcgctgtcac agctggcctg ggaactgctg ggcgagcccc gcgcggccac gggggacctg 360 gcgtgccgct tcctgcagct gctgcaggca tccgggcggg gcgcctcggc ccacctcgtg 420 gtgctcatcg ccctcgagcg ccggcgcgcg gtgcgtcttc cgcacggccg gccgctgccc 480 gcgcgtgccc tcgccgccct gggctggctg ctggcactgc tgctggcgct gcccccggcc 540 ttcgtggtgc gcggggactc cccctcgccg ctgccgccgc cgccgccgcc aacgtccctg 600 cagccaggcg cgccccggc cgcccgcgcc tggccgggc agcgtcgctg ccacgggatc 660 ttcgcgcccc tgccgcgctg gcacctgcag gtctacgcgt tctacgaggc cgtcgcgggc 720 ttcgtcgcgc ctgttacggt cctggggcgtc gcttgcggcc acctactctc cgtctggtgg 780 cggcaccggc cgcaggcccc cgcggctgca gcgccctggt cggcgagccc aggtcgagcc 840 cctgcgccca gcgcgctgcc ccgcgccaag gtgcagagcc tgaagatgag cctgctgctg 900 gcgctgctgt tcgtgggctg cgagctgccc tactttgccg cccggctggc ggccgcgtgg 960 tcgtccgggc ccgcgggaga ctgggaggga gagggcctgt cggcggcgct gcgcgtggtg 1020

gegatggcca acagegetet caatecette gtetacetet tettecagge gggegaetge 1080
eggeteegge gacagetgeg gaageggetg ggetetetgt getgegegee geagggagge 1140
geggaggaeg aggagggee eeggggeeae eaggegetet acegeeaaeg etggeeeeae 1200
eeteattate aceatgeteg gegggaaeeg etggaegagg geggettgeg eecaeeeeet 1260
eegegeeeea gaeeeetgee ttgeteetge gaaagtgeet tetag 1305

<210> 23

<211> 1356

<212> DNA

<213 > Homo sapiens

<400> 23

atggagtcct cacccatece ceagtcatea gggaactett ceaetttggg gagggtccct 60 caaaccccag gteectetae tgecagtggg gteecggagg tggggetaeg ggatgttget 120 teggaatetg tggeectett etteatgete etgetggaet tgactgetgt ggetggeaat 180 geegetgtga tggeeggat egeeaagaeg eetgeectee gaaaatttgt ettegtette 240 cacctetgee tggtggacet getggetgee etgaceetea tgeecetgge eatgetetee 300 agetetgeee tetttgacea egeeetettt gggggaggtgg eetgeegeet etaettgtt 360 etgagegtg getttgteag eetggeeate eteteggtgt eageeateaa tgtggagege 420 taetattaeg tagteeacee eatgegetae gaggtgeea tgaegetggg getggtggee 480 tetgtgetgg tgggtgtg ggtgaaggee ttggeeatgg ettetgtee agtgttgga 540 agggteteet gaggagagg ageteeeagt ttttgtggt gtetttgetg teetttaett tetgttgee 660 etgeteetea taettgtgt etaetgeage atgtteegg tggetgeeat 720 cageaeggge egetgeeeae gtggatggag acacceegge aacgeteega ateteteage 780

agcegeteca egatgetea cageteggg gecececaga ceaececaea eeggaegttt 840 gggggaggga aageageat ggtteteetg getgtgggg gacagtteet getetgttgg 900 ttgeectaet tetetteea eetetatgtt geeetgagtg eteageecat tteaaetggg 960 caggtggaga gtgtggteae etggattgge taettttget teaetteeaa eeetttette 1020 tatggatge teaaeegggg gageteagea ageagtttgt etgettette 1080 aageeagete eagaggaga getgaggetg eetageegg agggeteeat tgaggagaae 1140 tteetgeagt teetteaggg gaetggetg eettetgag eetgggtte eegaeeeta 1200 eeeageecea ageaggage aeetgetgt gaetttegaa teeeaggeea gatagetga 1260 gagaeetetg eegeetgag teatga 1320 eteegteetg eegeeteaee eeggetggag teatga

<210> 24

<211> 966

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 24

atgaaccaga ctttgaatag cagtgggacc gtggagtcag ccctaaacta ttccagaggg 60 agcacagtgc acacggccta cctggtgctg agctccctgg ccatgttcac ctgcctgtgc 120 gggatggcag gcaacagcat ggtgatctgg ctgctgggct ttcgaatgca caggaacccc 180 ttctgcatct atatcctcaa cctggcggca gccgacctcc tcttcctctt cagcatggct 240 tccacgctca gcctggaaac ccagcccctg gtcaatacca ctgacaaggt ccacgagctg 300 atgaagagac tgatgtactt tgcctacaca gtgggcctga gcctgctgac ggccatcagc 360 acccagcgct gtctctctgt cctcttccct atctggtca agtgtcaccg gcccaggcac 420 ctgtcagcct gggtgtgtg cctgctgtgg acactctgtc tcctgatgaa cgggttgacc 480

tetteettet geageaagtt ettgaaatte aatgaagate ggtgetteag ggtggaeatg 540 gteeaggeeg ceeteateat gggggtetta acceeagtga tgaetetgte eageetgaee 600 etetttgtet ggggtgggag gageteeeag eagtggegge ggeageeeae acggetgtte 660 gtggtggtee tggeetetgt eetggtgtte eteatetgtt eeetgeetet gageatetae 720 tggtttgte tetaetggtt gageetgeeg eeegagatge aggteetgtg etteagettg 780 teaegeetet eetegteegt aageageage geeaaceeeg teatetaett eetggtgge 840 ageeggagga geeacagget geecaceagg teeetggga etggeeteea aeaggegett 900 egegaggage eegagetgga aggtggggag aegeecace tgggeaceaa tgagatggg 960 gettga

<210> 25

<211> 1002

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 25

atggagaagg tggacatgaa tacatcacag gaacaaggtc tctgccagtt ctcagagaag 60 tacaagcaag tctacctct cctggcctac agtatcatct ttatcctagg gctgccacta 120 aatggcactg tcttgtggca cttctggggc caaaccaagc gctggagctg tgccaccac 180 tatctggtga acctgatggt ggccgacctg ctttatgtgc tattgccctt cctcatcatc 240 acctactcac tagatgacag gtggcccttc ggggagctgc tctgcaagct ggtgcacttc 300 ctgttctata tcaaccttta cggcagcatc ctgctgtga cctgcatctc tgtgcaccag 360 ttcctaggtg tgtgccaccc actgtgttcg ctgccctacc ggacccgcag gcatgcctgg 420 ctgggcacca gcaccacctg ggccctggtg gtcctccagc tgctgccac actggccttc 480 tcccacacgg actacatcaa tggccagatg atctggtatg acatgaccag ccaagagaat 540

tttgatege tttttgeeta eggeatagtt etgacattgt etggetttet tteeeteett 600 ggteattttg gtgtgetatt eaetgatggt eaggageetg ateaageeag aggagaacet 660 catgaggaca ggeaacacag eeegageeag gteeateegg aceateetae tggtgtgtgg 720 eetetteace etetgttttg tgeeetteea tateaetege teettetaee teaceatetg 780 etttetgett teteaggaet geeagetett gatggeagee agtgtggeet acaagatatg 840 gaggeetetg gtgagtgtga geagetgeet eaaceeagte etgaettte ttteaagggg 900 ggeaaaaata gagteagget eeteeagaa etgaggeaga acaagttggg tgageateea 960 getgggagga agagatgeee agggttgaae agatetgggt aa 1002

<210> 26

<211> 1527

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 26

atgacgtcca cctgcaccaa cagcacgcc gagagtaaca gcagccacac gtgcatgccc 60 ctctccaaaa tgcccatcag cctggcccac ggcatcatcc gctcaaccgt gctggttatc 120 ttcctcgccg cctctttcgt cggcaacata gtgctggcgc tagtgttgca gcgcaagccg 180 cagctgctgc aggtgaccaa ccgttttatc tttaacctcc tcgtcaccga cctgctgcag 240 atttcgctcg tggcccctg ggtggtggcc acctctgtgc ctctcttctg gcccctcaac 300 agccacttct gcacggccct ggttagcctc acccacctgt tcgccttcgc cagcgtcaac 360 accattgtct tggtgtcagt ggatcgctac ttgtccatca tccaccctct ctcctacccg 420 tccaagatga cccagcgccg cggttacctg ctcctctatg gcacctggat tgtggccatc 480 ctgcagagca ctcctccact ctacggctgg ggccagccc agctacacta ttctcagcgt ggtgtccttc 600

atogtoatto cactgattgt catgattgcc tgctactccg tggtgttctg tgcagcccgg 660 aggeageatg etetgetgta caatgteaag agacaeaget tggaagtgeg agteaaggae 720 tgtgtggaga atgaggatga agagggagca gagaagaagg aggagttcca ggatgagagt 780 gagtttcgcc gccagcatga aggtgaggtc aaggccaagg agggcagaat ggaagccaag 840 gacggcagcc tgaaggccaa ggaaggaagc acggggacca gtgagagtag tgtagaggcc 900 aggggcagcg aggaggtcag agagagcagc acggtggcca gcgacggcag catggagggt 960 aaggaaggca gcaccaaagt tgaggagaac agcatgaagg cagacaaggg tcgcacagag 1020 gtcaaccagt gcagcattga cttgggtgaa gatgacatgg agtttggtga agacgacatc 1080 aatttcagtg aggatgacgt cgaggcagtg aacatcccgg agagcctccc acccagtcgt 1140 cgtaacagca acagcaaccc tcctctgccc aggtgctacc agtgcaaagc tgctaaagtg 1200 atetteatea teattttete etatgtgeta teeetgggge eetaetgett tttageagte 1260 ctggccgtgt gggtggatgt cgaaacccag gtaccccagt gggtgatcac cataatcatc 1320 tggcttttct tcctgcagtg ctgcatccac ccctatgtct atggctacat gcacaagacc 1380 attaagaagg aaatccagga catgctgaag aagttcttct gcaaggaaaa gcccccgaaa 1440 gaagatagee acceagacet geeeggaaca gagggtggga etgaaggeaa gattgteeet 1500 1527 tcctacgatt ctgctacttt tccttga

<210> 27

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

atggaggatc tctttagccc ctcaattc

28

<210> 28

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 28

ctagaaggca ctttcgcagg agcaaggc

28

<210> 29

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

atggagtect cacceatece ceagteate

29

<210> 30

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 30

tcatgactcc agccggggtg aggcggcag

29

<210> 31

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

atgaaccaga ctttgaatag cagtgg

26

<210> 32

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 32

tcaagccccc atctcattgg tgcccacg

28

<210> 33

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

atggagaagg tggacatgaa tacatcac

28

<210> 34

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 34

ttacccagat ctgttcaacc ctgggcatc

29

<210> 35

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

atgacgtcca cctgcaccaa cagcacgc

28

<210> 36

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 36

tcaaggaaaa gtagcagaat cgtaggaag

29

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

ccaggagcgt ttctatgcct

20

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 38

tgtgatcttt gctccctgca

20

<210> 39

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (28)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 39

tcagaacctg ccagcattga atagtgcc

28

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 40

atctgctttg ccccgtatgt

20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 41

accgccttgc tgtaggtcag

20

<210> 42

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (22)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 42

tcgtgccctt cgtcaccgtg aa

22

<210> 43

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized primer sequence

<400> 43

cccagcatcc ataccagaaa a

21

<210> 44

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 44

ctgtgtccct ctcatgccaa a

21

<210> 45

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized TagMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (28)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 45

tgagaaggca gagattccca tccttcct

28

<210> 46

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 46

tcgccatgag caacagcat

19

<210> 47

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 47

cactggactt accgccattg t

21

<210> 48

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (29)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 48

agatcatgtt gctccactgg aaggcttct

29

<210> 49

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 49

ggatctcttt agcccctcaa ttc

23

<210> 50

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 50

aaggtcaggt tgagacccca g

21

<210> 51

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (25)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 51

aacatttccg tgcccatctt gctgg

25

<210> 52

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 52

gctgttgact ttcgaatccc a

21

<210> 53

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 53

acggaggtag ctgtctgaca tga

23

<210> 54

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (26)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 54

tgagttcctg gagcagcaac tcacca

26

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized primer sequence

<400> 55

ggctttcgaa tgcacaggaa

20

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially

synthesized primer sequence

<400> 56

ggaagccatg ctgaagagga

20

<210> 57

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221 > misc_binding

<222> (28)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

ttctgcatct atatcctcaa cctggcgg

28

<210> 58

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 58

tggcctcttc accctctgtt t

21

<210> 59

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

atcaagagct ggcagtcctg a

21

<210> 60

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221> misc_binding

<222> (30)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 60

tccatatcac tcgctccttc tacctcacca

<210> 61

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 61

ccaaaatgcc catcagcct

19

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially
 synthesized primer sequence

<400> 62

gcactatgtt gccgacgaaa

```
<210> 63
```

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:an artificially synthesized TaqMan probe sequence

<220>

<221> misc_binding

<222> (1)

<223> Label FAM (6-carboxy-fluorescein)

<220>

<221 misc_binding

<222> (26)

<223> Label TAMRA

(6-carboxy-N,N,N',N'-tetramethylrhodamine)

<400> 63

catccgctca accgtgctgg ttatct

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/09408

A CLAS	COLETO A TION OF CURITOR AND THE			
	SSIFICATION OF SUBJECT MATTER CC1 ² C12N15/09 C12N1/15 C1	2W1 /10		
	K16/28, C12P21/02, C12Q1/02, C1	2N1/19, C12N1/21, C12N5/	10, C07K14/705,	
GO1	N33/15, G01N33/50	201/68, A01/31//11, A61K4	B/00, A61P43/00,	
	to International Patent Classification (IPC) or to both	national classification and IPC		
	DS SEARCHED	national classification and II C		
	documentation searched (classification system follow	ed by classification symbols)		
Int	.C17 C12N15/00~15/09, C07K14/	705		
1	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,			
Documenta	tion searched other than minimum documentation to	the extent that such documents are included	in the fields seembed	
		are extent and over documents are included	in the fields searched	
Flactronic	data base consulted during the internal in 1			
Gen	data base consulted during the international search (na eBank/EMBL/DDBJ/GeneSeg	ame of data base and, where practicable, sea	arch terms used)	
	ssProt/PIR/GeneSeg			
C. DOCU	MENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category*	Citation of document, with indication, where	appropriate of the relevant passages	B-lauran da' N	
A	JP, 8-245697, A (Takeda Chemic	appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
••	24 September, 1996 (24.09.96)	(Ramily, pope)	1-15,17	
	2330 (24.03.30)	(Family: Hone)		
A	WO, 98/46620, A1 (MILLENNIUM)	PHARM INC).	1-15,17	
	22 January, 1998 (22.01.98)		1-13,17	
	& AU, 9869736, A & US, 589	1720, A		
	& EP, 1007536, Al	i		
	WO 00/2555 (0055			
A	W0, 99/37679, A1 (MILLENNIUM I	PHARM INC),	1-15,17	
	29 July, 1999 (29.07.99) & US, 5945307, A & AU, 992;	2260 3		
	& US, 5945307, A & AU, 9923 & EP, 1056777, A1	2369, A		
	1 22 / 1030 / / / <u>A1</u>			
		1		
		1	ĺ	
ļ				
		1		
Further	documents are listed in the continuation of Box C.	See patent family annex.		
 Special 	categories of cited documents:	"T" later document published after the intern	national filing date on	
"A" docume	nt defining the general state of the art which is not	priority date and not in conflict with the	application but cited to	
"E" earlier d	ed to be of particular relevance ocument but published on or after the international filing	understand the principle or theory under	lying the invention	
date		"X" document of particular relevance; the cli- considered novel or cannot be considered	attree invention cannot be	
"L" document cited to	nt which may throw doubts on priority claim(s) or which is establish the publication date of another citation or other	step when the document is taken alone		
special r	cason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the cli- considered to involve an inventive step	aimed invention cannot be	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other		combined with one or more other such d	ocuments, such	
combination being obvious to a person skilled in the art		killed in the art		
than the priority date claimed "&" document member of the same patent family				
Date of the ac	Date of the actual completion of the international search Date of mailing of the international search report			
27 March, 2001 (27.03.01) 10 April, 2001 (10.04.01)				
Name and	iling address of the ICA/			
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer		
Japai	TOO PACEME OFFICE		ĺ	
Facsimile No.		Telephone No.		
orm PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1002)		.,		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/09408

POX 1 Opsel Agricult Americ cestatul cinquis Mete Indun amsenteundie (Continunation of stein 1 of litest sueset)				
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:				
I. Claims Nos.: 16 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:				
The invention as set forth in claim 16 pertains to methods for diagnosis of diseases and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article $17(2)(a)(i)$ of the PCT and Rule $39.1(iv)$ of the Regulations under the PCT, to search.				
2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:				
Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).				
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)				
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:				
The inventions as set forth in claims 1 to 15 and 17 are divided into groups of 9 individual inventions, i.e., inventions relating to DNAs encoding the amino acids of SEQ ID NOS:1 to 4 and 17 to 21, and DNAs having the sequences of SEQ ID NOS:5 to 8 and 22 to 26. These groups of inventions are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.				
 As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment 				
of any additional fee. 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:				
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international				
scarch report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: Claims 1 to 15 and 17 (inventions relating to the DNA encoding the amino acid sequence of SEQ ID NO:1 and the DNA having the sequence				
of SEQ ID NO:5) Remark on Protest				

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC)) Int.Cl' Cl2N15/09, Cl2N1/15, Cl2N1/19, Cl2N1/21, Cl2N5/10, C07K14/705, C07K16/28, Cl2P21/02, Cl2Q1/02, Cl2Q1/68, A61K 31/711, A61K48/00, A61P43/00, GO1N33/15, GO1N33/50					
B. 調査を行	〒った分野				
	最小限資料(国際特許分類(IPC))				
Int. C1 ⁷ C12N15/00~15/09, C07K14/705					
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの					
国際調査で使用	 用した電子データベース(データベースの名称、	調査に使用した用語)			
GeneBa	nk/EMBL/DDBJ/GeneSeq				
Swiss	Prot/PIR/GeneSeq				
C. 関連する					
引用文献の			関連する		
カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連すると	さは、その関連する箇所の表示	請求の範囲の番号		
Α	JP, 8−245697, A (武田)	薬品工業株式会社)24.9	1-15, 1		
	月. 1996 (24. 09. 96)	(ファミリーなし)	7		
Α	WO, 98∕46620, A1 (MIL	LENNIUM PHARM INC) 22. 1	1-15, 1		
	月.1998 (22.01.98) &	AU, 9869736, A&	7		
	US, 5891720, A&EP, 1	1007536, A1			
Α	WO, 99/37679, A1 (MIL	LENNIUM PHARM INC) 29. 7	1-15, 1		
	月.1999 (29.07.99) &	US, 5945307, A&	7		
	AU, 9922369, A&EP, 1	1056777, A1			
□ C欄の続きにも文献が列挙されている。		□ パテントファミリーに関する別	紙を参照。 		
* 引用文献の		の日の後に公表された文献			
	車のある文献ではなく、一般的技術水準を示す				
もの。「中、同歌山麻日並の山麻土をは株許されてお、同歌山麻日		出願と矛盾するものではなく、§ の理解のために引用するもの	e明の原理又は理論		
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日 以後に公表されたもの		「X」特に関連のある文献であって、当	4該文献のみで発明		
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行		の新規性又は進歩性がないと考え			
日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する		「Y」特に関連のある文献であって、当			
文献(理由を付す)		上の文献との、当業者にとって自			
「O」ロ頭による開示、使用、展示等に言及する文献 よって進歩性がないと考えられるもの 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 「&」同一パテントファミリー文献			CV G		
国際調査を完了した日 27.03.01 国際調査報告の発送日 1			01		
国際調査機関の名称及びあて先		特許庁審査官(権限のある職員)	.)		
日本国特許庁(ISA/JP)		鈴木 恵理子 · 印	<i>,</i>		
郵便番号100-8915 申京都子代用区露が関ニア月4巻3号		電跃乗長 03~3581-1101	内線 3//8		

第[欄	請求の範囲の一部の調査ができないときの意見(第1ページの2の続き)
法第8条 成しなか	R第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作いった。
1. X	請求の範囲 16 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。 つまり、
	請求の範囲16の発明は、疾病の診断方法に該当し、特許協力条約第17条(2) (a) (i) 及び特許協力条約に基づく規則39.1(iv)の規定により、この国際調査 機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2.	請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.	請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に 従って記載されていない。
第Ⅱ欄	発明の単一性が欠如しているときの意見(第1ページの3の続き)
次に述	べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。
配列 発明	情求の範囲1-15,17に記載された発明は、配列番号1-4,17-21のアミノ酸 」をコードするDNA、または配列番号5-8,22-26の配列を有するDNAに係る 」群という、個々の9の発明に区分され、当該発明群が単一の一般的発明概念を形成する に連関している一群の発明であるとは、認められない。
1.	出願人が必要な追加調査手教料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求 の範囲について作成した。
2.	追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追 加調査手数料の納付を求めなかった。
3. [出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. X	出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。 請求の範囲1-15,17 (配列番号1のアミノ酸配列をコードするDNA、及び配列番号5の配列を有するDNAに係る部分の発明)
追加調査	手数料の異議の申立てに関する注意 〕 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
L	J

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉 (1)) (1998年7月)